

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
BACTÉRIOTHÉRAPIE LACTIQUE

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)
présentée et soutenue le *Novembre 1931*

PAR
Jacques DURIEZ
Pharmacien

JURY { MM. COUTIÈRE, *Président.*
GORIS, *Professeur.*
RÉGNIER, *Agrégé.*

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1931-1932

N° 1

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
BACTÉRIOTHÉRAPIE LACTIQUE

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)

présentée et soutenue le Novembre 1931

PAR

Jacques DURIEZ

Pharmacien

JURY

MM. COUTIÈRE, *Président.*

GORIS, *Professeur.*

RÉGNIER, *Agrégé.*

CALAIS

IMPRIMERIE DES ORPHELINS

1931

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, Doyen, *, ☉ I.
 H. LEBEAU Assesseur, O. *, ☉ I.
 G. DURSENT, Secrétaire, *, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. GUÉRIN, *, ☉ I. Botanique générale.
 BÉHAL, Membre de l'Institut,
 G. O. *, ☉ I. Chimie organique.
 PERROT, O. *, ☉ I. Histoire naturelle des
 Médicaments.
 COUTIÈRE, O. *, ☉ I. Zoologie.
 LEBEAU, O. *, ☉ I. Pharmacie chimique.
 BOUGAULT, *, ☉ I. Chimie analytique.
 GORIS, *, ☉ I. Pharmacie galénique.
 TASSILLY, *, ☉ I. Physique.
 DAMIENS, *, ☉ I. Chimie minérale.
 HÉRISSEY, O. *, ☉ I. Chimie biologique.
 SOMMELET, *, ☉ I. Hydrologie et Hygiène.
 LUTZ, *, ☉ I. Cryptogamie et Microbiologie.
 FABRE, ☉ I. Toxicologie.
 LAUNOY, O. *, ☉ I. Professeur sans chaire.

Doyen Honoraire : RADAIS, O. *, ☉ I.

Professeurs Honoraires : MM. A. VILLIERS, *, ☉ I.
 DÉLÉPINE, O. *, ☉ I.
 GUERBET, *, ☉ I.

CHARGES DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, ☉ I. Législation et Déontologie
 pharmaceutiques.
 LAUNOY, O. *, ☉ I. Pharmacodynamie.
 DELABY, *, ☉ I. Minéralogie.
 BACH, ☉ I. Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, ☉ I.	MM. MASCRÉ, ☉ I.	MM. BEDEL, ☉ I.
PICON, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.	RÉGNIER, ☉ I.
	BACH, ☉ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☉ I., agrégé chargé
 des T. P. de 1^{re} année Chimie générale.
 N. . . et RÉGNIER, ☉ I.,
 agrégés, chargés des travaux de Chimie analytique.
 SOUÈGES, ☉ I. Micrographie.
 LEROUX, ☉ I. Physique.
 DEVAL, ☉ I. Microbiologie.
 DELABY, *, ☉ I., PICON, ☉ I.,
 et FLEURY, ☉ I., agrégés, chargés des Travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.



A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

A MA GRAND-MÈRE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AVANT - PROPOS

En connaissance comme en amour,
on n'aborde pas toujours là où l'on voulait aller

L. DAUDET,

Lorsque M. le professeur Coulière voulut bien nous admettre à travailler dans son laboratoire de la Faculté de Pharmacie, nous pensions devoir y faire des recherches de Coprologie. Délaissant pour une fois les parasites animaux, c'est l'étude de la flore fongique des fèces que l'on voulait bien nous confier. Les selles contiennent, en effet, très fréquemment des champignons inférieurs dont on voit les filaments mycéliens ou les spores, parfois en abondance, dans les préparations, et dont on ne sait encore rien de précis sur le rôle pathogène possible. Durant plusieurs mois, au cours desquels M. le Docteur Goiffon mit complaisamment à notre disposition la « matière première » qui nous était nécessaire et qui afflue dans son laboratoire, nous réussîmes à isoler de nombreuses espèces de levures et autres champignons mycéliens. Mais leur diversité même nous fit comprendre que la tâche que nous avions entreprise dépassait de beaucoup le cadre de nos projets où le facteur « durée », n'était, hélas, pas le dernier à entrer en ligne de compte. Il nous fallut donc restreindre notre sujet. Par l'intermédiaire des laits fermentés, dont l'ingestion est suivie du passage dans les matières fécales de représentants de leur flore à la fois fongique et bactérienne, cette limitation du sujet se traduisit bientôt par une déviation complète, puisque notre attention finit par se porter uniquement sur les ferments lactiques et la question de leur passage dans les excréments.

Sans doute nous trouvera-t-on bien téméraire d'oser aborder un sujet d'aussi vaste envergure que celui des ferments lactiques et de leur application en Thérapeutique, sujet qui, depuis la fin du siècle dernier, a été l'objet de nombreux travaux de la part d'auteurs français et étrangers,

C'est ce dont nous n'avons pas tardé à nous apercevoir quand nous avons commencé notre documentation. Mais le gros travail qu'elle nous a demandé, en même temps que la constatation qu'aucun fait bien nouveau n'avait été communiqué depuis plusieurs années, nous ont amené à penser que le moment était peut-être choisi pour rassembler, en les résumant, les connaissances que nous avons sur la question, et de faire, en quelque sorte, « le point » de la Bactériothérapie lactique. Nous nous sommes efforcé de faire une Bibliographie aussi complète que possible afin que le jour où la question tentera quelque nouveau chercheur, notre Index lui facilite la tâche en lui faisant connaître, avec des références exactes, la plus grosse partie des travaux de ses devanciers. Enfin, nous nous sommes permis d'apporter notre modeste contribution et d'exposer les résultats auxquels nous ont conduit quelques recherches personnelles.

Nous accomplissons un agréable devoir en adressant, ici, nos remerciements les plus sincères à M. le professeur Coulière, Membre de l'Académie de Médecine, pour l'hospitalité qu'il a bien voulu nous accorder dans son laboratoire et la bienveillance qu'il nous a toujours témoignée. Nous nous excusons auprès de lui, et nous regrettons que ce travail ne soit pas plus directement issu du bel enseignement qu'il professe. Ce sera néanmoins, et toujours, notre fierté d'avoir pu passer deux années à ses côtés, ce qui nous a valu le bénéfice de fréquents entretiens, aussi éclairés qu'agréables, où son esprit universel nous permettait de faire notre profit d'une foule de choses.

Que Monsieur le Docteur Goiffon, chef de Laboratoire à la Clinique Thérapeutique Chirurgicale de Vaugirard, veuille bien trouver également ici le témoignage de notre vive gratitude pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail et les précieux conseils qu'il a bien voulu nous donner.

Nous remercions Monsieur Rondeau du Noyer, Assistant à la Faculté de Pharmacie, qui nous a initié à la Technique Coprologique.

Nous tenons, enfin, à exprimer notre reconnaissance à M. le Professeur Goris et à M. le Professeur Agrégé Régnier, qui ont bien voulu nous faire l'honneur de faire partie de notre Jury de Soutenance.

INTRODUCTION

Le premier, le Pr. Hayem attira l'attention du monde médical sur les propriétés antiputrides de l'acide lactique et le moyen de réaliser, grâce à lui, l'antiseptie intestinale. Après lui, Grundzach, Schmitz et Singer, insistèrent sur ce fait que l'acide lactique abaisse notablement la proportion des sulfo-éthers contenus dans l'urine, preuve évidente de la diminution des putréfactions intestinales. Enfin, Metchnikoff eut l'idée de remplacer l'administration d'acide lactique en substance, par des cultures de microbes capables de le produire, dans l'intestin, aux dépens des sucres.

Déjà, les propriétés antagonistes que possèdent certaines bactéries à l'égard de certaines autres, avaient été mises à profit pour le traitement des maladies infectieuses : traitement du charbon bactérien par des streptocoques et des affections à staphylocoques — furoncles — par les Blastomycètes. Cette méthode qui emploie, comme auxiliaires thérapeutiques, divers microorganismes vivants qui doivent par leur présence ou leurs sécrétions, lutter contre les microbes pathogènes ou simplement nuisibles au bon fonctionnement des organes du corps humain, est connue sous le nom de Bactériothérapie. Avec la Vaccination et la Sérothérapie, elle est issue de l'admirable œuvre scientifique de Pasteur,

L'idée cependant n'était pas nouvelle. Dès 1852, en effet, Mone, médecin anglais, préconisait l'emploi de la levure de bière comme médicament, mais cet essai fut abandonné. Repris par Debouzy puis, par Brocq, vers 1897, pour le traitement de la furonculose, des pyodermies et des acnés phlegmoneuses, sous le nom de Mycodermothérapie, l'emploi de la levure de bière fut même étendu au traitement du diabète et de la gastro-entérite ; enfin, on l'utilisa comme rénovateur intestinal. Mais des succès répétés firent peu à peu abandonner ce mode de traitement qui, de nos jours, n'est plus prescrit que très rarement.

Cependant, à la suite des résultats peu probants et souvent contradictoires donnés par les antiseptiques chimiques qui pourtant sont légion, il fallut bien songer à lutter efficacement contre la flore intestinale alors reconnue comme étant très souvent la cause primordiale de nombre d'affections locales ou même générales.

Metchnikoff, ayant remarqué que parmi les populations qui consomment du lait aigri on rencontre un nombre anormal de vieillards vigoureux et un plus grand nombre de centenaires, attribua cette longévité robuste et exceptionnelle à leur régime, et spécialement à l'ingestion du *Bacillus Bulgaricus* qui est un des agents de la coagulation particulière des laits caillés. D'après lui, le ferment lactique, par concurrence vitale et grâce à son pouvoir acidogène très marqué, triompherait des bactéries putréfiantes de l'intestin qu'il accuse, non seulement des désordres locaux qui nuisent au bon fonctionnement de l'appareil digestif, mais aussi de vieillir prématurément l'organisme, et il préconisa l'ensemencement de l'intestin avec des cultures de ce ferment.

Cependant, à la suite de cette théorie pleine d'espoirs, appuyée par les travaux de Cohendy, de Rosenthal, de Berthelot et de Charazain-Wetzel, et de tant d'autres auteurs qui ont affirmé l'acclimatation possible d'un ferment lactique dans la cavité intestinale de l'Homme, bien des contradictions ont surgi, et le traitement préconisé par Metchnikoff ne tarda pas à avoir ses détracteurs. Alors que ses partisans voyaient, dans le bacille lactique, un précieux auxiliaire capable de lutter contre les infections consécutives aux interventions chirurgicales, et d'aider à la prophylaxie des maladies microbiennes, sans oublier son rôle essentiel dans les affections gastro-intestinales, d'autres auteurs affirmaient que la bactériothérapie lactique manquait

absolument de base scientifique ; les uns comme Palier, de New-York, déclaraient que le bacille lactique ne pouvait traverser le tube digestif sans y succomber à cause de l'acidité prononcée du suc gastrique ; d'autres affirmaient que le ferment lactique, employé comme rénovateur intestinal, était absolument inactif, ce ferment n'apportant aucune atténuation à la virulence des matières fécales, et l'acidité qu'il développe n'entravant que partiellement la pullulation des microbes putréfiants ; d'autres enfin, comme Carrière, ont même été jusqu'à considérer ce traitement comme dangereux, parce qu'il est capable de déterminer la production d'entérite subaigüe et chronique.

Nous allons essayer de reprendre, ici, l'étude de ce traitement. Nous verrons quelles sont les raisons qui militent en faveur de l'institution d'un traitement intestinal antiputride, basé sur la Bactériothérapie ; nous nous efforcerons d'élucider le véritable rôle que remplit le ferment lactique mis en présence des bactéries de l'intestin, et si ce rôle n'est pas rempli de préférence par une espèce lactique plutôt que par une autre ; enfin, nous verrons quel est le meilleur moyen de parvenir à l'implantation du germe de choix dans le conduit intestinal (2^e partie du travail) .

Auparavant, après un rapide exposé sur les microbes lactiques en général, et sur la chimie de la fermentation lactique, nous aurons à faire le choix d'un milieu de culture convenable et d'une méthode de dosage des acides de fermentation (1^o partie du travail) .

Plan du travail

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — Généralités sur les microbes lactiques

- II. — La fermentation lactique
- III. — Choix d'un milieu de culture
- IV. — Caractérisation et dosage des acides de fermentation

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE I. — La flore intestinale — Rôle des ferments lactiques dans l'intestin

- II. — Les ferments utilisés en thérapeutique
- III. — Les laits fermentés
- IV. — La Bactériothérapie lactique ; ses contre-indications
- V. — Les préparations lactiques du commerce
- VI. — Exposé de nos recherches personnelles
- VII. — De l'influence du régime alimentaire sur la flore intestinale

CONCLUSION

Première Partie

CHAPITRE I

Généralités sur les microbes lactiques

L'acide lactique, découvert par Scheele dans le lait aigri, est un produit résiduaire de la destruction des hydrates de carbone et des matières azotées ; on le trouve également dans les sécrétions des cellules vivantes, dans le suc gastrique, les sucs intestinaux et dans la chair musculaire, aussi est-il considéré comme un terme transitoire de la dégradation alimentaire que l'organisme détruit plus ou moins rapidement. Comme il a été signalé dans la fermentation alcoolique, certains savants admirent que ce fut un stade intermédiaire entre les sucres fermentescibles et l'alcool.

C'est à Pasteur que nous devons nos premières connaissances sur la fermentation lactique (1857), et ensuite aux différents auteurs français qui ont complété ses études sur les maladies du vin, de la bière et du lait. Pasteur montra que la fermentation lactique, dite normale, était due au développement d'un microbe qu'il appela *Bacillus lacticus* [242] ; mais à la notion d'un ferment unique, présidant au dédoublement d'une molécule de sucre en deux molécules d'acide lactique, se substitua, peu à peu, la conception d'êtres très nombreux jouissant tous, plus ou moins, de la propriété de produire de l'acide lactique aux dépens des sucres, mais différant par leurs formes, leurs conditions d'existence, la proportion et la nature de l'acide formé. C'est ainsi que Lister étudia, en 1878, un diplocoque appelé par lui *Bacterium lactis* ; que Grolenfelt découvrit une forme analogue un an après et lui donna le nom de *Streptococcus acidi lactici*, et Hueppe, vers 1874, isola une bactérie lactique, qui passa dans la nomenclature sous le nom de *Bacillus acidi lactici*, et à laquelle ce savant attribua le principal rôle dans la coagulation spontanée du lait.

Depuis, la fermentation lactique a fait l'objet de nombreuses recherches ; elle est, en effet, non seulement importante au point de vue théorique, mais joue un très grand rôle dans la pratique. En dehors même de leur rôle biologique et de leur emploi comme moyen thérapeutique, il suffit de rappeler l'intervention utile des ferments lactiques dans les diverses industries agricoles : laiterie, beurrerie, fromagerie, fabrication de conserves alimentaires, végétales (choucroute, etc...), dans l'ensilage des fourrages, la conservation des cossettes de betteraves, leur rôle en distillerie, boulangerie, leur action néfaste dans les boissons fermentées où ils occasionnent des maladies (vins poussés, cidres filants, bières tournées, etc...).

Les microbes producteurs d'acide lactique sont très répandus dans la nature ; on les trouve dans les différentes industries que nous venons de mentionner, dans la salive et dans les fèces de l'homme et des animaux, dans le sol, l'eau, etc... On peut en rencontrer dans l'urine [3].

Ils ont donné lieu à de nombreux travaux et il convient de citer dès à présent les noms des savants suivants : Pottevin, Beyerinck, Barthel, Orla-Jensen, Bertrand, Weigmann, Richet, Kayser, Mazé, Lohais, de Freudenreich, Conn, Hastings, Evan, Henneberg, Boekhout, de Vries, Gorini, Rahn, V. Laer, Daire, Smit, Van Steenberge, etc...,

Les premiers travaux parus sur la question avaient tendance à englober sous le terme de « bactéries lactiques » tous les microorganismes capables de produire, aux dépens des sucres et des substances hydrocarbonées, de l'acide lactique en quantité plus ou moins grande ; mais l'acide lactique se rencontre si fréquemment parmi les produits de l'action de microbes sur ces substances que, bientôt on ne sut plus trop, à vrai dire, ce que c'était qu'un ferment lactique, s'il fallait appeler de ce nom tous ceux qui donnaient naissance à cet acide [255]. On ne peut, en effet, considérer comme *ferments lactiques* des microbes, parmi lesquels se rencontrent certains germes pathogènes de l'homme et des animaux, et ne donnant que de faibles quantités d'acide lactique, souvent trop minimes pour coaguler le lait, tels le *Pneumocoque*, le *Streptocoque pyogène*, le *Staphylocoque doré*, les *ferments acétiques* (Osterwalder) etc..., ni même d'autres microbes comme le *Colibacille*, le *Pneumobacille*, le *Bacillus lactis aerogenes*, pour lesquels le rendement en acide lactique est encore bien faible.

Pottevin, le premier, considéra comme *ferments lactiques actifs* ceux qui transforment le sucre en acide lactique à quelques centièmes près, mais c'est Beyerinck qui a distingué la classe des microbes lactiques actifs en prenant pour base une série de caractères généraux ordinairement admis par la plupart des auteurs, à quelques changements près. [37-38]

1° Ils sont immobiles.

2° Ils constituent des anaérobies facultatifs.

3° Ils ne forment pas de spores.

4° Leur forme est tantôt ronde et tantôt plus ou moins allongée ; on a des streptocoques ou des streptobacilles, des diplocoques ou des diplobacilles.

5° Ils prennent le Gram.

6° Ils exigent comme nourriture, des hydrates de carbone déterminés et de l'azote peptonisé ou, de préférence, tryptonisé.

7° Ils ne poussent qu'au bout de quelques jours sur milieu nutritif solide, et, en général, sous la forme de très petites colonies, même sur leur milieu préféré, le moût gélosé ou gélatiné. Les colonies peuvent cependant grossir avec l'âge, surtout pour les espèces aérophiles ; elles peuvent présenter un aspect brunâtre ou opaque. Par contre, leur culture est assez facile dans les milieux liquides neutres, ou additionnés de $\text{CO}^3 \text{Ca}$; ainsi, ils se développent assez rapidement dans l'eau de malt, le moût de bière, l'eau de levure autolysée, le lait, etc... Dans ces milieux liquides, il se manifeste souvent un trouble ; le ferment lactique peut y affecter la forme floconneuse plus ou moins prononcée, elle est concomitante avec la faculté d'agglutiner la levure. La longueur du microbe est, en général, un peu plus grande sur les milieux solides que dans les milieux liquides.

8° Ils forment aux dépens des sucres attaqués, soit exclusivement de l'acide lactique (*microbes lactiques vrais*) soit, en sus d'une quantité dominante d'acide fixe, constituée par de l'acide lactique et une trace d'acide succinique, une dose, variable avec l'espèce envisagée, d'acide volatil, (acide acétique — traces d'acide formique) et, parallèlement et proportionnellement à ce dernier, du CO^2 , de l'alcool et un peu de glycérine. Dans certains cas, Smit aurait identifié des traces d'acétone et d'aldéhyde. Enfin, avec le lévulose, il se forme encore, proportionnellement à la production de CO^2 et d'acide volatil, de la mannite. Dans ce cas, la dose d'acide volatil devient notablement plus forte que pour les autres sucres et

pour certaines espèces de microbes lactiques, l'acidité volatile peut même arriver à dépasser l'acidité fixe. La quantité d'alcool et de glycérine diminue, au contraire, avec la formation de mannite (*microbes producteurs de CO₂*)

9° Il sont dépourvus de catalase, c'est à dire qu'ils sont incapables de décomposer l'eau oxygénée. Ce caractère négatif est très spécifique pour les microbes lactiques car, d'après Beyerinck, tous les autres microbes manifestent la réaction catalytique.

10° Ils ne réduisent pas les nitrates.

Diverses classifications de microbes lactiques ont été proposées par Beyerinck, Weigmann, Orla-Jensen, Evans Gorini ; elles sont basées sur les formes de ces microorganismes, leur exigences alimentaires, leur propriétés physiologiques. Nous reproduisons ci dessous, en la schématisant, la classification d'Orla-Jensen [145], la plus généralement admise.

A - Bactéries qui, outre l'acide lactique, ne forment que des traces de produits accessoires :

a) FORME de BATONNETS (bacillaires)

I. — THERMOBACTERIUM, produisant de l'acide lactique lévogyre ou inactif. Les espèces de ce genre ne se développent qu'au dessus de 22° et croissent rapidement entre 40° et 50°. Elles se présentent sous l'aspect de longs bâtonnets. Les thermobactéries attaquent fortement la caséine et jouent un rôle important dans la maturation des fromages cuits.

Ce genre comprend les espèces suivantes :

T. helveticum (*Bacterium casei* ε)

T. jugurt.

T. bulgaricum.

T. lactis, la plus répandue dans le lait.

T. cereale.

II. — STREPTOBACTERIUM, produisant de l'acide lactique dextrogyre ou inactif et se présentant sous l'aspect de longues chaînes de bâtonnets courts.

A citer :

S. Casei (*Bacterium casei* α), apte à décomposer la caséine. Espèce microbienne la plus importante dans la maturation du fromage.

S. plantarum, inapte à décomposer la caséine.

IIb) FORMES SPHÉRIQUES (cocci)

III — *STREPTOCOCCUS* produisant toujours de l'acide lactique dextrogyre et dont les principales espèces très répandues sont :

S. lactis (*Bact. lactis acidi* Leichmann) qui envahit le lait à la température ordinaire.

S. kefir.

S. bovis.

S. mastiditis, agent de la mammite contagieuse des vaches.

S. fecalis qui serait, avec l'entérocoque, une des espèces prédominantes des matières fécales humaines.

S. cremoris qui donne au lait son bon goût.

S. thermophilus.

S. faecium, du fumier des mammifères.

S. liquefaciens, seul streptocoque capable de liquéfier la gélatine.

S. glycerinaceus.

S. inulinaceus.

S. pyogenes, streptocoques pathogènes qui ne coagulent pas le lait.

Violle a décrit un streptocoque extrêmement répandu dans tous les laits, crèmes, beurres, fromages, que l'on trouve sur le marché de Paris, et qu'il a appelé *Streptocoque lactique glaireux*. C'est une espèce banale, prenant le Gram, qui se trouve vraisemblablement dans la plupart des laiteries où il y est amené par l'eau, le sol, les aliments. Il donne, avec le saccharose, de l'acide lactique en quantité importante (5 g. p. 1 000), de l'acide acétique en petites proportions, des traces d'acide formique; il forme également dans les milieux sucrés une substance glaireuse.

B — Bactéries lactiques formant, en sus de l'acide lactique, d'appréciables quantités de gaz ou d'autres produits accessoires.

a) FORMES de BATONNETS (bacillaires)

IV — *BIFIDIBACTERIUM*, produisant de l'acide lactique dextrogyre et de notables quantités d'acide acétique.

B. bifidus de Tissier, constituant la grande majorité des bactéries qui envahissent les fèces des petits enfants.

V. BETABACTERIUM, produisant presque toujours de l'acide lactique inactif et n'exerçant aucune action sur la caséine.

Les principales espèces sont :

B. breve (*Bacterium casei* γ), chaînettes à bouts arrondis.

B. longum (*Bacterium casei* δ), bâtonnets fins, assez longs.

B. caucasicum, bâtonnets tantôt ténus, tantôt très longs, tantôt trapus ; leur habitat est le képhir, les fromages, l'ensilage, etc... Ils coagulent le lait lentement en donnant souvent beaucoup d'acide lactique.

b). FORMES SPHÉRIQUES (cocci)

VI. BETACOCCLUS, produisant de l'acide lactique généralement lévogyre, rarement inactif.

Les espèces de ce genre vivent ordinairement dans les betteraves et les choux-raves. Elles font fermenter le lactose et contribuent à la dégradation des pectines. A citer :

• *B. arabinococcus* qui fait fermenter l'arabinose et le xylose.

B. bovis qui n'attaque pas l'arabinose.

C — Aux véritables bactéries lactiques se rattachent plus ou moins les **Pseudo-bactéries lactiques** qui comprennent deux groupes :

1^o) CELLES QUI PRENNENT LE GRAM, mais qui se différencient des bactéries lactiques en ce qu'elles réduisent les nitrates et forment de la catalase.

Elles comprennent deux sous-groupes :

a) MICROBACTÉRIES, petits bacilles résistant à des températures élevées.

B. Acidophilus, bactérie des fèces.

b) TÉTRACOCCLUS, qui comprennent, parmi les microbes et les sarcines, les formes produisant de l'acide. Ils sont aérophiles et poussent même à 10°-20°. Ils liquéfient la gélatine, coagulent le lait lentement ; ils donnent peu d'acide lactique et assez d'acide acétique. L'acide lactique formé est inactif ou dextrogyre,

2^o) CELLES QUI NE PRENNENT PAS LE GRAM, qui se contentent comme source d'azote, de sels d'ammonium. Ce sont des bâtonnets mobiles ou immobiles, aérophiles, poussant bien en surface. Ils ne liquéfient pas la gélatine. Ils donnent à

côté de l'acide lactique beaucoup de produits secondaires : acides volatils avec gaz, produits odorants. C'est à ce groupe qu'appartiennent les nombreuses bactéries du type *coli-aerogenes*.

Le *Bact. coli* attaque, en solution neutre, la caséine comme le font les vrais ferments lactiques. Il produit plus d'Hydrogène que de CO_2 .

Le *Bact. aerogenes* pousse en colonies d'aspect porcelanique. Il n'attaque pas la caséine. Il produit peu d'acide lactique (lévogyre ou inactif), de l'acide succinique et de l'acide acétique, plus de CO_2 que d'Hydrogène. Il coagule fortement le lait.

Ces ferments sont très abondants sur le pain, la paille, les litières, céréales, etc.. Ce sont des habitants constants de l'intestin et des matières excrémentielles. Ils jouent surtout un rôle dans la transformation des sucres, des graines, betteraves, choux, etc... Ils sont très fréquents en laiterie, surtout lorsque le lait n'est pas recueilli avec suffisamment de soins et de propreté. Ils changent le goût du lait qui devient acide, douceâtre, souvent très désagréable, produisant le boursoufflement des fromages ; certaines variétés sont pathogènes pour les animaux.

Parmi les autres bactéries lactiques qui ne figurent pas dans la classification d'Orla-Jensen, que nous venons de résumer, et que l'on rencontre assez fréquemment, on peut citer :

Le *Bacille de Bous-Offler*, isolé des selles des nourrissons et dans 3 cas d'épithéliome gastrique par Galt et Iles, qui le déclarent identique au *B. bulgaricus*.

Bacillus delbruecki de Leichmann, ferment lactique vrai, le plus fréquent dans la fermentation du malt et de l'orge et qui, pour Rodella, serait identique au *B. lactis acidii* du même auteur et au *Bacterium casei* L et N, isolé à partir du fromage.

Bacillus colidolactis de Hussong et Hammer, bacille thermophile à 71° qui coagule le lait avec une grande rapidité, par production d'acides, parmi lesquels l'acide lactique droit prédomine.

Enfin le lait contient toujours des bacilles thermophiles dès qu'il a quitté l'étable, mais ordinairement en nombre très réduit : Tanner et Harding qui en ont fait l'étude, les décrivent comme des bâtonnets mobiles, Gram positifs, susceptibles de former des spores et se développant bien à la température de la pasteurisation basse. La plupart sont anaérobies facultatifs et produisent de l'acide lactique à partir de l'amidon, du saccharose et du glucose. Ils n'attaquent pas le lactose et ne produisent pas de gaz.

CHAPITRE II

La Fermentation Lactique

La fermentation lactique est un mode très important de destruction naturelle du sucre observé à la fois chez un grand nombre d'animaux de toutes sortes et chez beaucoup d'espèces microbiennes dont nous venons de faire une énumération succincte.

Alors que la fermentation alcoolique est, d'après Kostytschew et Eliasberg, un processus inutile pour la levure au contact de l'air, puisque ces auteurs ont établi que la respiration normale de la levure et des autres ferments alcooliques est suffisamment intense pour satisfaire leurs exigences vitales, l'étude des ferments lactiques montre que, pour certains microbes, la fermentation est, au contraire la source unique d'énergie, même au contact de l'air. C'est la conclusion qui résulte de recherches effectuées par Kostytschew et Mlle Afanasiewa sur le *Bacillus caucasicus* et le *Bacterium lactis acidii* Leichmann qui donnent de l'acide lactique comme produit unique de la fermentation. Ce sont des anafacultatifs, mais ils préfèrent l'absence d'oxygène et se multiplient difficilement sur des milieux solides dans les conditions ordinaires. Leur unique source d'énergie, la fermentation, ne peut pas être remplacée par la respiration normale même si l'aération est parfaite.

Le *Bacillus acidi lactici* Hueppe et le *Bacterium lactis aerogenes* Escherich, au contraire, produisent beaucoup de CO_2 au contact de l'air à l'aide de processus d'oxydation.

Des sucres divers peuvent subir la fermentation lactique et les rapports qui peuvent exister entre la constitution ou la structure stéréochimique de ces sucres et la facilité avec laquelle ils donnent de l'acide lactique ou telle espèce d'acide lactique, n'ont pas encore été étudiés.

Quel est le mécanisme de la fermentation lactique ?

Il est évidemment différent selon les microbes auxquels on a affaire (microbes lactiques vrais ou microbes producteurs de CO_2 et selon les sucres auxquels ils s'attaquent.

Action sur les hexoses.

1°) LES MICROBES LACTIQUES VRAIS transforment les hexoses sous l'action d'une lacto-acidase, enzyme endo-cellulaire découverte par Herzog dans le *Bacterium lactis acidi*, exclusivement en acide lactique.



Les microbes lactiques conservent leur pouvoir acidifiant, même après dessiccation, d'après Weigmann.

Depuis les travaux de Scheffer, Kostytschew et Soldatenkov, Neuberg et Gorr, on admet que la dégradation primaire du glucose donne naissance à l'hydrate de méthylglyoxal et que la production d'acide lactique résulte d'une oxydoréduction intramoléculaire de cet hydrate. Mais cet hydrate était un produit hypothétique dont on n'avait jamais réussi à mettre en évidence la formation dans une fermentation lactique.

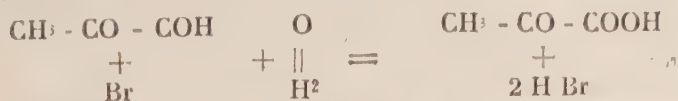
Kostytschew et ses collaborateurs [179-180] avaient pu montrer que lorsqu'on fait agir des ferments lactiques vrais (*B. delbruecki*, *Bac. lactis acidi*, *B. caucasicus*) sur du sucre en présence de chlorhydrate de semicarbazide, qu'on neutralise au préalable et qu'on ajoute à petites doses au milieu en fermentation, on arrive à isoler la disemicarbizone du méthylglyoxal (aldéhyde pyruvique) à côté de la semicarbizone de l'acide pyruvique. Mais ce furent Neuberg et Maria Kobel qui, les premiers, ont réussi à fixer et à isoler le méthylglyoxal dans la fermentation lactique grâce à une sorte de dissociation fractionnée des agents actifs de la fermentation

et à l'élimination de la cozymase qui intervient obligatoirement dans l'action de la cétoaldéhydomutase (glyoxalase), c'est-à-dire dans la transformation du méthylglyoxal en acide lactique [227].

Ils sont parvenus à ce résultat en faisant agir sur l'hexodiphosphate de Harden un extrait obtenu par plasmolyse ou autolyse des cellules du *B. delbruecki*. La production de méthylglyoxal, variable du fait qu'on ne parvient pas toujours à débarrasser complètement la zymase de la cozymase, est cependant très élevée : 83 p. 100 de l'hexose en moyenne (1).

Or le méthylglyoxal ainsi isolé peut être transformé en acide lactique sous l'influence des corps bactériens du *B. delbruecki* ; ceux-ci renferment donc de la glyoxalase (2).

Mais la formation d'acide pyruvique dans l'expérience réalisée par Kostytschew et Soldatenkov semblerait montrer que le méthylglyoxal n'est pas directement transformé en acide lactique mais que, à l'instar de ce qui se produit dans la fermentation alcoolique, l'aldéhyde pyruvique est d'abord transformée en acide pyruvique, et que c'est par réduction de ce dernier acide que se forme l'acide lactique. A l'appui de cette thèse, Neuberg et Gorr [222] ont montré que le méthylglyoxal peut être réellement transformé en acide pyruvique, et que cette transformation est obtenue aisément à l'aide d'un agent oxydant qui peut subir lui-même une réduction concomitante, tel que l'eau de Brome. La réaction s'opère suivant la formule :



Le méthylglyoxal se présente ainsi comme un véritable produit intermédiaire tant dans la fermentation lactique que dans la fermentation alcoolique.

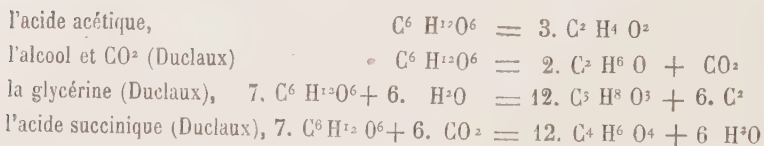
(1) Seul l'hexose diphosphate a fourni jusqu'ici du méthylglyoxal dont la formation se fait probablement suivant la formule :



(2) Cette diastase est très répandue dans la nature : tissus animaux et végétaux, et dans de nombreux organismes. C'est ainsi que non seulement les ferments lactiques vrais et le *B. coli* [221], mais même des microorganismes ne produisant pas normalement d'acide lactique et n'attaquant pas cet acide, sont encore capables d'opérer la transformation du méthylglyoxal en acide lactique.

2°) LES MICROBES LACTIQUES PRODUCTEURS DE CO_2 donnent lieu à une série de produits dont la formation n'a encore pu être exprimée que par des réactions hypothétiques.

Exemples : pour la production de



Jensen considère la formation de ces produits secondaires, qui seraient dûs à l'action d'un complexe d'enzymes à actions parallèles, comme un signe de vitalité, sauf en ce qui concerne l'acide acétique qui se forme dans des conditions de culture défavorables (présence d'air, température trop élevée, etc...)

Action sur les polysaccharides

D'après la règle générale, ceux-ci devraient, pour devenir assimilables, subir une hydrolyse préalable. C'est ainsi que Bertrand, Weisweiller et Duchacek ont signalé que le lactose était préalablement hydrolysé en glucose et en galactose par le *B. Bulgaricus* ; il y a donc sécrétion de lactase (1) ; celle de sucrase a été également signalée chez beaucoup d'espèces lactiques ; par contre Van Steenberghe n'a pu trouver de maltase en employant la méthode auxonographique de Beyerinck.

Aussi, d'après lui, le maltose, et même le saccharose, pour une partie des espèces microbiennes, subissent l'assimilation et l'acidification sans hydrolyse préalable.

D'après Jensen, les enzymes qui attaquent les disaccharides paraissent être endocellulaires, l'hydrolyse étant plus forte avec les vieilles cultures.

Les microbes lactiques ne possédant ni amylase, ni inulinase, ne peuvent saccharifier ni l'amidon, ni l'inuline.

(1) Rud. Orban, en 1899, constata la présence de lactase dans les fèces des enfants allaités.

Mais l'inuline se saccharifiant facilement par de petites doses d'acide (notamment d'acide lactique), dans des milieux nutritifs modérément acides et en présence de microbes lactiques, l'inuline pourra subir la saccharification et successivement l'acidification.

La dulcité, l'inosite, l'érythrite, les gommes, ne sont guère attaquées ; par contre, certains glucosides comme l'esculine peuvent être décomposés en esculéine et en glucose. [157]

Nature de l'acidité produite par les ferments lactiques

L'acide lactique formé dans la nature est inactif, gauche ou droit ; il peut se présenter des cas où l'on a de l'acide inactif à côté de l'acide actif. On admet généralement que l'organisme animal produit exclusivement de l'acide lactique droit, tandis que les divers ferments lactiques fournissent soit l'isomère gauche, soit l'isomère droit de cet acide. Cependant, les données analytiques sur lesquelles ces conclusions sont basées, sont bien insuffisantes pour entraîner la conviction.

Il semble bien qu'en dehors de l'espèce microbienne, facteur principal (Péré, Jensen [144]), la nature de l'acide dépende d'un ensemble complexe de facteurs. Embden et ses collaborateurs ont pu montrer que l'organisme animal est susceptible de produire dans certaines conditions de l'acide lactique gauche, et Kayser, Péré et Pottevin ont établi que des modifications des conditions de culture, telles que la nature et la proportion de l'aliment azoté principalement, la température, l'addition d'antiseptiques, la plus ou moins grande résistance de l'aliment hydrocarboné, conduisent à des changements de la forme stéréo-isomérique de l'acide lactique produit par les divers microorganismes. L'acide obtenu est dans la majorité des cas un acide actif, c'est quelquefois l'un des antipodes seul, mais c'est le plus souvent un mélange d'acide inactif et de l'un des corps actifs. Avec les cultures mixtes, comme elles se présentent, dans la pratique, il y a formation des deux acides simultanément (Jensen admet un enzyme spécial pour chacun des 2 acides actifs), et c'est pour cela que l'acide lactique du commerce est inactif ou très légèrement gauche (Merck Dupont).

Les ferments lactiques donnent en général entre 0, 4 et 0, 9 p. 100 d'acidité selon la race, la tribu d'une même espèce, la génération ou l'origine. Certains ferments bulgares dépassent nettement le taux moyen de 0, 45 p. 100 et peuvent donner jusqu'à 2 g. à 2 g. 5 p. 100 d'acide lactique.

Van Steenberghe a remarqué, qu'en général, les cultures initiales brutes obtenues par l'ensemencement du milieu de culture avec de la terre, du crottin de cheval, des fèces, de la levure de distillerie, atteignent une acidité plus élevée que les cultures obtenues par un repiquage dans un nouvel échantillon du même milieu stérile ; l'acidification diminue progressivement dans les cultures obtenues par repiquages successifs, pour se maintenir ensuite constante dans les mêmes conditions de culture.

On est donc amené à supposer que les microbes, amenés de la nature dans les divers milieux de culture, manifestent leurs propriétés physiologiques, ou du moins certaines d'entre elles, d'une façon plus intense dans la première culture que dans les suivantes ; mais on peut aussi se demander si nous parvenons à cultiver, dans nos milieux, les organismes avec les mêmes caractères, ou plutôt, si nous parvenons à leur faire manifester les mêmes caractères que dans la nature.

Marche de la fermentation lactique

D'après Grimm, la fermentation des substances sucrées par les microbes lactiques offrirait 4 phases nettement délimitées.

La première, ou *phase d'adaptation*, qui a été également appelée *stade d'incubation* (Soxhlet), commence dès l'ensemencement du ferment. Sa durée, 4 heures et demie en moyenne, dépend essentiellement de la richesse de l'ensemencement (Makrinoff et Wojtkiewicz). Elle est caractérisée par un accroissement notable du microbe.

La deuxième, ou *phase d'ascension de l'activité vitale* commence aussitôt après et dure environ 12 heures. Elle se manifeste par une augmentation de l'activité vitale de la bactérie, qui s'accroît d'heure en heure pour atteindre son maximum vers la 14^e heure. L'acide lactique se produit en abondance.

La troisième phase commence vers la 16^e heure, et dans celle-ci on constate une diminution progressive de la production d'acide lactique.

La quatrième phase, qui apparaît vers la 32^e heure, est caractérisée par le fait que les bactéries vieilles ont complètement perdu la propriété de former de l'acide lactique.

La phase d'ascension de l'activité vitale présente un intérêt pratique, par ce qu'elle constitue la phase durant laquelle on doit réensemencer le microbe lactique, si l'on veut obtenir des cultures dont les propriétés physiologiques se maintiennent.

Influence de la nature et de la dose de l'azote.

Les vrais ferments lactiques exigent des matières protéiques complexes, sous la forme soluble ou colloïdale (caséine du lait), mais elles n'ont pas besoin de trouver dans le milieu nutritif qui leur est offert, autant d'azote qu'on l'a cru jusqu'à présent ; une dose de 0,5 p. 100 est suffisante.

Les véritables bactéries lactiques peuvent, en effet, se contenter de quantités minimales d'azote, quand celui-ci est donné sous la forme d'extrait de levure [310-343] ou de lait peptonisé par les moisissures [48-100]. Il en faut un peu plus, 1 p. 100, quand l'azote est donné sous la forme de peptones (la peptone de caséine étant meilleure que la peptone ordinaire de Witte), et encore plus quand il est donné sous forme de lait.

Le lait est en effet un mauvais aliment azoté pour les bactéries lactiques qui, à la seule exception des ferments lactiques du fromage (bacilles acidoprotéolytiques de Gorini [109 à 112]), aptes à sécréter la caséase (Weigmann), ne peuvent pas réduire la caséine et se procurer ainsi les composés azotés nécessaires [314].

Par contre, le lait peptonisé par les moisissures, comme la paracaséine, ou encore la caséine ayant subi l'action de la présure, sont de bons aliments ; c'est pour cette raison que les tyrothryx, qui, en attaquant la caséine du lait, forment de la matière azotée soluble, servent de bons précurseurs aux ferments lactiques, surtout s'il poussent la dégradation de la matière quaternaire jusqu'au terme ammoniacal servant à neutraliser l'acide à mesure de sa production ; c'est encore pour la même raison que les bouillons à base d'infusion de

fromage obtenue à 40-50°, peuvent rendre de grands services pour la culture sur milieu gélatinisé.

Comme autres aliments on peut citer : la légumine, le gluten en présence de phosphate de soude, parmi les protéines naturelles; la gélatine est par contre un mauvais aliment. L'extrait Liebig, le moût de bière, se comportent également comme de bons aliments.

Les ferments attaquent les composés azotés à l'aide d'enzymases (erepsine) qui n'agissent qu'en solution neutre ; la dégradation peut être poussée, avec ou sans intermédiaire de la peptone, jusqu'au terme amino-acide exclusivement ; avec les peptones, les ferments lactiques paraissent former des polypeptidés non précipitables par l'acide phosphotungstique.

La quantité d'azote nutritif n'a d'influence sur l'acidification que jusqu'à la dose nécessaire à la multiplication du microbe acidifiant.

Influence de la nature et de la dose du sucre

Les divers sucres sont plus ou moins facilement transformés en acide lactique. Certaines espèces préfèrent le lévulose au glucose ; d'autres, le lactose au saccharose ou au maltose, etc. Le galactose passe pour être l'hexose le plus difficile à transformer.

L'acidification est proportionnelle à la dose de sucre ; mais, proportionnellement à la concentration du milieu en sucre, l'acidification est plus forte dans les milieux les moins sucrés. Autrement dit, l'acidification ne croît pas dans les mêmes proportions que la dose de sucre.

En moyenne, la dose optima de sucre ou d'hydrate de carbone est comprise entre 0,5 à 2 p. 100, mais elle peut atteindre, pour le *Str. cremoris*, 5 à 10 p. 100.

Influence de la multiplication des microbes

Plus le nombre des microbes est grand, plus la transformation du lactose en acide lactique est hâtive et rapide.

Ainsi que cela a été démontré par Kahn, il y a, selon les microorganismes, de très grandes variations dans la production horaire d'acide lactique par cellule microbienne. La production d'acide lactique est plus faible dans le cas où le microbe se multiplie selon une progression arithmétique, que

dans le cas où il se multiplie normalement, c'est-à-dire selon une progression géométrique. Dans une culture vigoureuse, il faut estimer la quantité horaire d'acide lactique produite par cellule microbienne, entre 5×10^{-10} et 10×10^{-10} milligrammes.

Dans les expériences faites par Baker, Brew et Conn, le rapport entre l'acide lactique produit et le nombre de cellules microbiennes, fut toujours trouvé parfaitement constant, d'où résulte la conclusion, que chaque cellule d'une espèce déterminée de microbe lactique peut provoquer, aux dépens du sucre, une dose limitée et fixe d'acide.

C'est surtout au début de la fermentation que le rôle de la richesse de l'ensemencement microbien se fait le plus sentir car, par la suite, la fermentation lactique ne va pas parallèlement au développement des ferments lactiques. Lorsque la culture arrive à un certain degré d'acidité, toute multiplication du microbe se trouve arrêtée, mais l'acidification continue par les cellules présentes et peut être encore très active jusqu'à un maximum d'acidité totale et variable pour chaque espèce, mais constante pour une même espèce dans les mêmes conditions de milieu ; c'est ainsi qu'à $\text{pH}=7,2$ où le *Bact. casei* ne pousse plus, la fermentation lactique marche encore à une vitesse égale environ aux $3/4$ de ce qu'elle est au pH optimum.

Le maximum d'acidité, une fois atteint, reste invariable dans le milieu de culture.

La culture simultanée d'un mélange de plusieurs espèces de microbes lactiques ne produit, dans le cas le plus favorable, qu'une acidification égale à celle qu'est capable de provoquer le microbe lactique le plus acidifiant du mélange.

Influence de la température

Il existe une température minima, optima et maxima, variable avec l'espèce, et aussi, dans une certaine mesure, avec la matière première qui subit la fermentation lactique. Ces températures sont comprises entre 10° et 50° , avec optima de 32° - 38° à 40° - 50° . Ces températures minima et maxima

(1). Le *Thermobacillus tarbellicus*, isolé par Guittonneau de la boue de Dax, où il pullule, a son optimum de température à 68° . Très actif producteur d'acide lactique, il supporte cependant très mal l'acidité, et ne se multiplie qu'entre les pH 6 et 9.

dépendent beaucoup de l'état de vigueur des ferments lactiques; certaines variétés du *Str. cremoris* poussent encore à + 3°. La température mortelle varie un peu avec l'espèce considérée; elle est comprise entre 60° et 75° pour 15 minutes de chauffage. Jensen a même constaté que le *Microbacterium lacticum* supporte 85° [157].

Dans peu de cas, la multiplication et l'action enzymatique d'un microbe trouvent leur optimum à la même température. Ainsi à l'optimum de température, (50-51°), pour le *Bact. casei*, les bactéries ne se multiplient plus d'une façon appréciable. Mais si, au dessous de l'optimum, la rapidité de l'acidification diminue avec la température de culture, le maximum final d'acidité reste, pour une espèce microbienne déterminée, indépendant de la température de culture.

Influence de l'air

On peut diviser les ferments lactiques, à cet égard, en oligoaérophiles, aérophiles et indifférents.

Avec l'acidité formée, c'est surtout le contact de l'air qui diminue le temps de vitalité des microbes lactiques. On y peut remédier par la méthode des cultures en profondeur, qui supprime du moins le contact direct et abondant de l'air, et donne de bons résultats.

Influence de la réaction du milieu

Sorensen a établi, sur une base indiscutable, cette notion que l'acidité diastasique était intimement liée à la réaction du milieu exprimée par la concentration en ions H (pH).

Des recherches faites par Bachrach et Cardot, il résulte que le départ de la fermentation lactique ne s'accomplit d'une façon satisfaisante, qu'à condition que le milieu ait initialement une réaction légèrement acide. [13]

C'est seulement pendant les premières heures de la fermentation que l'acidité du milieu exerce une influence prépondérante sur la multiplication du microbe et règle ainsi, dès le début, la marche de la fermentation, tandis que dans les phases suivantes, l'influence de l'acidité, sans cesse croissante, du milieu, est beaucoup plus restreinte.

Les ferments lactiques se développent sur tous les milieux compris entre $\text{pH}=7$ et $\text{pH}=4,3$; leurs seuils seraient à 6 % d'acide lactique normal et 10% de sonde normale[299]. La réaction optimum serait celle déterminée par l'addition de 0,040 d'acide lactique normal à 10 cc. d'un milieu peptoné et lactosé, ce qui conduit à une réaction ayant un $\text{pH}=4,3$.

Il est à noter, que les résultats obtenus, lorsque l'acidification des milieux est effectuée à l'aide de divers acides minéraux (SO^4H^2 - NO^3H - HCL) ou organiques (CH^3 - CO_2H) sont sensiblement analogues, exception faite de PO^4H^3 qui agit d'une façon nettement défavorable.

La réaction optimum du milieu est sous la dépendance d'un assez grand nombre de conditions : origine et âge du ferment, température, nature et concentration du milieu (qui amortit plus ou moins l'acidité produite par le ferment), sels et substances étrangères, variation de certaines constantes en fonction du pH .

Vitalité des ferments lactiques

La vitalité des ferments lactiques n'est pas très grande. « En raison de leur formation d'acide, les bactéries lactiques, encore davantage que la plupart des autres microorganismes, ont une existence qui, en quelque sorte, les mène fatalement au suicide » (Jensen).

Dans leur milieu de culture, ils peuvent être détruits déjà au bout de 15 jours à 3 semaines, aussi leur régénération doit être très fréquente, en ayant recours à des ensemencements abondants.

La résistance des bactéries lactiques n'est pas inversement proportionnelle à l'acidité du milieu, et si la mortalité des différentes espèces est cependant d'autant plus rapide que l'acidité est plus élevée, et que, par conséquent, la concentration primitive du milieu est plus élevée, il faudrait admettre, pour chaque espèce, une résistance spécifique aux acides. C'est ainsi que les bactéries lactiques en forme de bâtonnets, bien qu'elles produisent des quantités d'acide bien plus fortes, sont plus résistantes que les streptocoques, et que, par contre, les espèces floconnenses, non productives de CO_2 , résistent le moins longtemps dans le milieu acidifié.

La mortalité devient d'autant plus notable que les cultures présentent une plus grande surface à l'air.

La culture, pratiquée dans un milieu additionné d'un excès de craie, est la meilleure méthode de conservation des microbes lactiques [26], car la craie neutralise l'acide au fur et à mesure qu'il se forme, et les bacilles lactiques peuvent ainsi se maintenir en vie durant plusieurs années, à condition d'employer des matras d'assez grande capacité. C'est ainsi que Barthel a pu conserver pendant au moins 9 ans, sans transplantation, des *Str. lactis* [19].

On s'est demandé, si l'action des microbes lactiques était arrêtée par suite de l'influence des ions H formés ou des molécules non dissociées d'acide lactique. Holwerda a montré que la fermentation lactique dans du petit lait peptoné, est entravée par une proportion déterminée de molécules d'acide lactique non dissociées, malgré la teneur du milieu en substances régulatrices de la réaction (tampons). Cette proportion d'acide semble constante pour les différentes bactéries essayées par l'auteur, mais elle varie selon la composition du petit lait. Aucune constante, par contre, n'a été observée dans l'action inhibitrice de l'acide lactique non dissocié, lorsque la fermentation a lieu dans un milieu artificiel.

L'effet exercé par l'acide lactique sur la fermentation ne dépend pas de la configuration optique de l'acide. Ainsi, par exemple, une bactérie produisant de l'acide droit, est entravée dans son action, dans la même mesure, par l'acide lactique droit que par l'acide gauche.

Influence de la dessiccation

Sous la forme sèche la vitalité des ferments lactiques serait un peu plus grande - on verse la culture liquide sur un corps destiné à absorber le liquide et on dessèche ensuite avec modération la poudre obtenue - Weigmann a ainsi conservé leur faculté acidifiante pendant 3 à 5 ans.

D'après Carrion et Sorel, les meilleurs résultats seraient obtenus en soumettant les bacilles lactiques à une déshydratation préalable, en les mettant en présence d'un excès de sucre. On procède alors à la dessiccation. Le produit obtenu, après pulvérisation du résidu, fourmille de bacilles parfaitement vivants.

Influence des sels

La fermentation est, au pH optimum, fortement activée, environ 50 à 60 pour 100, par l'addition de phosphates qui agiraient par catalyse (Goiffon). La concentration optimale serait de 1 pour 100 en P_2O_5 .

Le fer possède également une action accélératrice sur la vitesse de l'acidification, alors que cette dernière est notablement diminuée en présence du cuivre, et que d'autres métaux (Al, Pb, Ni, Sn) ne semblent produire aucun effet appréciable.

De nombreux sels métalliques : zinc, argent, or, platine, thorium, vanadium, et le sulfate de Lanthane, agissent à doses très réduites sur la fermentation lactique en l'accéléralant quelque peu. (1)



(1) Pour l'influence des sels sur la fermentation lactique, voir les travaux de Ch. Richet, Cardot, de Mlle Bachrach, de Mlle Lesbros, dont on trouvera une partie citée dans notre Index bibliographique.

CHAPITRE III

Choix d'un milieu de culture

Si le lait est le milieu dans lequel les ferments lactiques poussent le mieux, il se prête mal aux expériences de laboratoire car, ne présentant qu'une alcalinité absolument nulle, au bout de quelques heures de culture, et grâce à l'acide lactique fabriqué par les ferments aux dépens du lactose, il se produit une coagulation des matières albuminoïdes qui ne permet pas de conserver l'égale répartition des germes en tous les points de la culture pendant toute la durée de l'expérience, le coagulum enrobant une partie des microorganismes en paralysant leurs échanges.

De plus, le lait est coagulé d'une façon irrégulière qui tient à différents facteurs tels que, entre autres, la qualité du lait, son âge, le procédé de stérilisation, la présence ou l'absence d'oxygène [114]. Enfin Knudsen et Sorensen ont démontré, à l'aide de streptocoques du type *cremoris* et de lactobacilles du type *thermobacterium*, que le lait frais de vaches saines ne se prête pas toujours à la culture des bactéries lactiques (laits dysgénésiques de Gorini [116]), et qu'ainsi, ce qu'on a nommé la prédisposition fermentative n'est pas un mythe, et qu'il convient, au contraire, d'y attacher une attention soutenue.

Cet état réfractaire à la culture de certains ferments lactiques ne serait pas dû à la présence dans ces laits d'un principe antiseptique, mais à l'absence de quelques substances stimulantes indispensables à la vie des microbes, puisque additionnés, soit d'un extrait de levure, soit de peptone à dose même très faible, ils se comportent alors comme des laits normaux.

Ces différents inconvénients du lait lui font préférer dans les laboratoires des milieux composés artificiellement de manière à le rappeler par leurs constituants.

Voici rangés, d'après Bertrand et Duchacek, à peu près par ordre décroissant de valeur nutritive, les milieux de culture préconisés par les différents auteurs, y compris le lait, choisi comme terme de comparaison.

Excellents. — Le lait additionné de $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

Le lait seul.

Le bouillon de touraillon des auteurs.

L'extrait (ou plutôt le moût) de malt, d'après Cohendy, additionné de peptone Chapoteau, de $\text{CO}_3 \text{Ca}$ et de lactose.

Assez bons. — La décoction de levure (à 0,5 pour 100 d'extrait) additionnée de peptone Chapoteau, de $\text{CO}_3 \text{Ca}$ et de lactose.

La décoction de lentilles (1 p. de lentilles et 5 p. d'eau — 15 minutes d'ébullition) renfermant 1,81 p. 100 d'extrait et additionnée des mêmes substances.

Le sérum de lait, sucré et peptonisé, préparé d'après Cohendy [64] et additionné de $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

Le moût de malt additionné seulement de $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

Mauvais. — Les décoctions de touraillon, de levure, ou de lentilles, additionnées de peptone et de lactose, sans $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

Le sérum de lait, même additionné de peptone, mais sans $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

Les décoctions d'oignons (1 p. d'oignons et 4 p. d'eau — 30 minutes d'ébullition) ou de haricots (comme pour les lentilles : 1,51 p. 100 d'extrait), additionnées de peptone, de lactose et de $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

L'urine, également additionnée de peptone, de lactose et de $\text{CO}_3 \text{Ca}$.

Nous avons eu recours, dans nos expériences, au milieu de Bertrand et Duchacek, au touraillon, dans lequel les ferments lactiques se développent très rapidement, tout en

conservant leur activité biochimique. Nous le préparons comme suit :

On fait bouillir 15 minutes 50 g. de touraillon (germes d'orge desséchés), que l'on se procure dans les malteries, dans 1.200 à 1.300 cc. d'eau. On passe avec expression, on complète à 1.000 cc. avec de l'eau et on ajoute :

Peptone sèche de Chapoteaut	10 g.
Lactose	20 à 40 g.

Après dissolution, on filtre sur papier Chardin et on stérilise 5 minutes à 120°.

On répartit alors dans des ballons de 100 cc. renfermant chacun 3 g. de $\text{CO}_3 \text{ Ca}$ et que l'on stérilise 15 minutes à 120°.

A défaut de touraillon, on peut employer soit le malt, soit de la maltopeptone (25 g. p. 1.000).

Pour l'isolement des ferments lactiques on peut recourir à différents milieux. Citons :

1) le milieu de Ayers et Mudge :

D'une par A)	Lait écrémé en poudre	5 g.
	Phosphate disodique	1 »
	Eau distillée	250 »

D'autre part B)	Peptone	5 g.
	Extrait de viande Liebig	3 »
	Eau distillée	250 »

On mélange A et B et on ajoute 500 cc. d'agar lavé à 3 p. 100. Il n'est pas nécessaire d'ajuster la réaction. Sur ce milieu, après 48 heures d'étuve, les colonies des bactéries fortement acidifiantes sont caractérisées par une auréole trouble, tandis que les colonies des bactéries faiblement acidifiantes peuvent être mises en évidence en arrosant la plaque avec la solution de Bromocrésol pourpre utilisée dans les mesures colorimétriques du pH.

2) le milieu gélatiné de Calmette, Nègre et Boquet :

Petit lait	100 cc.
NaCl	0 g.05
Peptone	1 »
Gélatine	10 »

CHAPITRE IV

Caractérisation et dosage des acides de fermentation

Dans les milieux de culture soumis à la fermentation lactique, il se dégage des gaz qui sont principalement formés de CO_2 , surtout lorsque l'on a ajouté du $\text{CO}_3 \text{Ca}$ pour maintenir le liquide au voisinage de la neutralité. On a cependant trouvé quelquefois de l'azote, de l'hydrogène, et Baginski a obtenu du méthane avec le *B. lactis* Escherich.

Les produits non gazeux sont l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide succinique. On peut trouver également des traces d'acétone, de glycérine, et d'alcool éthylique.

Le dosage de l'acidité des bouillons permet d'apprécier l'activité de la pullulation microbienne.

Recherche de l'acide lactique

On caractérise l'acide lactique, dans les milieux de culture, soit PAR LE RÉACTIF D'UFFELMANN :

Perchlorure de fer officinal
Eau phéniquée à 4 p. 1.000

Il gouttes.
100 cc.

qui vire du bleu au jaune franc en présence d'acide lactique, alors que l'acide chlorhydrique et l'acide acétique le décolorent seulement.

Ou mieux PAR LE RÉACTIF DE BERG :

Fe ² Cl ⁶	II gouttes.
HCl	II »
Eau distillée	100 cc.

Cette solution incolore passe au jaune sous l'influence de l'acide lactique et des acides-alcools en général, mais n'est influencée, ni par l'acide chlorhydrique, ni par l'acide acétique.

Pour l'emploi, on ajoute dans 10 cc. de l'un de ces réactifs, V à X gouttes du bouillon de culture filtré ; une coloration jaune même faible indique l'existence d'acide lactique.

Soit PAR LA RÉACTION DE L'IODOFORME :

A 1 cc. de bouillon, on ajoute 1 cc. de solution iodo-iodurée et un peu de soude ; en présence d'acide lactique il se forme de l'iodoforme.

Pour rendre plus prononcée l'odeur d'iodoforme, à peine perceptible avec le bouillon de touraillon, on peut opérer de la façon suivante : le bouillon, filtré, est additionné de SO⁴H², on filtre, on agite avec une quantité à peu près équivalente d'éther, exempt d'alcool, (10 cc. environ), qui entraîne l'acide lactique ; on décante l'éther qu'on laisse évaporer à basse température. Sur le résidu, repris par l'eau, on fait la réaction précédente ; l'odeur d'iodoforme est ainsi très nette et le liquide examiné au microscope présente des cristaux hexagonaux.

Soit PAR LA MÉTHODE D'HOFMANN [135] :

On ajoute du chlorure ferrique, en évitant un trop grand excès, on alcalinise avec CO³Na² et on acidifie ensuite avec CH³-COOH. Par concentration du liquide au bain-marie, il y a formation en quelques heures d'un précipité caractéristique,

blanc avec un reflet verdâtre, d'un lactate complexe ayant la formule suivante : $[\text{Fe} (\text{C}^3 \text{H}^4 \text{O}^2)] \text{Na}, 2 \text{H}^2 \text{O}$.

D'après les indications de l'auteur, la séparation de l'acide lactique par ce procédé serait quantitative.

Recherche de l'acide acétique

Agiter une partie du bouillon avec de l'éther que l'on sépare ensuite. Après évaporation de l'éther dans une capsule de verre, on reprend le résidu par quelques gouttes d'eau. On neutralise exactement avec de la soude diluée, et on ajoute une goutte de $\text{Fe}^2 \text{Cl}^6$ au dixième; on transvase dans un tube à essai.

En présence d'acide acétique, ou d'acide formique, le liquide prend une coloration rouge sang, et donne à l'ébullition un précipité ocreux de $\text{Fe}^2 \text{O}^3$.

Recherche de l'acide formique

Faire bouillir une autre portion du liquide neutralisé avec du nitrate d'argent qui se trouve réduit avec production d'un précipité noir d'argent.

Les acétates alcalins ne réduisent pas l'azotate d'argent.

DOSAGE DE L'ACIDE LACTIQUE

On peut recourir pour doser l'acide lactique :

- 1°) soit au titrage direct par alcalimétrie.
- 2°) soit à son dosage à l'état d'aldéhyde.
- 3°) soit à son dosage après salification.

Enfin on peut déterminer l'acidité ionique par la méthode colorimétrique de Clark et Lubs.

Méthodes alcalimétriques

La méthode alcalimétrique a été de beaucoup la plus employée par les différents expérimentateurs qui ont étudié les ferments lactiques. L'acidité du milieu est dosée à l'aide d'une solution titrée de potasse (Van Steenberge, Lumière, Richet et Cardot) ou de soude (Bouvet, Bertrand et Weisweiller) en présence de phtaléine du phénol.

MÉTHODE DE BERTRAND ET WEISWEILLER

On prélève une certaine quantité du milieu de culture, (les auteurs utilisent le lait), que l'on titre en présence de phtaléine, avec la liqueur de soude au Cinquième Normale.

Mais il faut tenir compte de ce que l'acide lactique produit par le microbe, n'existe pas seulement à l'état d'acide réel, mais, en une faible partie qui ne représente guère, du reste, que quelques centièmes de l'acidité libre, sous la forme d'éther lactyllactique qui prend naissance spontanément par réaction mutuelle de deux molécules d'acide avec élimination d'une molécule d'eau, de sorte que l'acidité de cet éther représente seulement la moitié de celle de l'acide lactique dont il est formé. Cet éther s'hydrate très aisément en milieu alcalin et reproduit les deux molécules d'acide lactique.

Voici dès lors comment on procède : lorsque le titrage a permis de saturer l'acidité libre du lait, on ajoute un excès de la solution de soude et on abandonne le matras bouché à la température ordinaire pendant une demi-heure ; la saponification de l'éther lactyllactique est alors accomplie, et il ne reste plus qu'à doser l'excès de soude avec de l'acide sulfurique au Cinquième Normal. Tout l'alcali employé, déduction faite de l'acidité initiale du milieu, représente la totalité des acides qui ont pris naissance au cours de la fermentation.

La méthode alcalimétrique est peu précise. Bertrand et Weisweiller recommandent de faire « le titrage de l'acidité avec beaucoup d'attention, car les virages de teinte ne sont pas d'une très grande netteté ». Richet et Cardot expliquent, que lorsqu'« on fait un dosage d'acide en employant la phénol-phtaléine, si l'on opère en milieu non coloré et non additionné de protéines, le dosage est très facile. A une goutte ou à deux gouttes près, soit un demi-dixième de cc, d'une solution de potasse N/50, il n'y a pas d'hésitation », mais qu'« il n'en est plus de même quand le liquide est assez fortement coloré en brun et renferme des substances protéiques comme c'est le cas pour nos milieux de culture, de sorte que l'hésitation est de IV, V ou VI gouttes de la solution potassique, même quelquefois davantage ». C'est cependant la méthode employée par les auteurs dans leurs essais.

De plus, il ne faut pas oublier que la phthaléine vire en milieu alcalin ($\text{pH} = 8$), et non à la neutralité absolue ($\text{pH} = 7$), de sorte qu'un milieu légèrement alcalin apparaîtra acide vis-à-vis de la phthaléine.

Enfin, d'après Mlle Sansonetti, une partie de la soude versée dans une émulsion de caillé se combine à un élément autre que l'acide lactique.

Dosage de l'acide lactique à l'état d'aldéhyde

Une solution sulfurique d'acide lactique, oxydée par le permanganate de potassium ou par MnO_2 colloïdal, qui évite une oxydation trop poussée [160], se transforme en aldéhyde éthylique qu'on dose par différentes méthodes.

A) MÉTHODE DE JÉRUSALEM. Cette méthode est basée sur la transformation de l'aldéhyde éthylique en iodoforme par une solution titrée d'iode, et dosage de l'iode en excès par l'hyposulfite de soude.

B) MÉTHODE DE VON FURTH ET CHARNASS. On ajoute un excès de bisulfite de soude avec lequel l'aldéhyde se combine ; on titre ensuite l'excès de bisulfite au moyen d'une liqueur d'iode.

C) MÉTHODE DE SOBOLEWA ET ZALESKI. L'aldéhyde acétique est dosée au moyen du pyrrol.

D) MÉTHODE DE BELLET. Cette méthode utilise les propriétés réductrices de l'aldéhyde acétique sur une solution argentine ammoniac-magnésienne.

De la diminution du titre de cette dernière, on déduit aisément la quantité d'acide lactique qui se trouvait dans la prise d'essai.

E) MÉTHODE DE MENDEL-GOLDSCHIEDER, dans laquelle l'acétaldéhyde est dosée colorimétriquement au moyen d'une solution de véralol.

Comme se rapprochant de ces méthodes, on peut signaler la MICROMÉTHODE DE HANSEN basée sur l'oxydation de l'acide lactique à l'état d'acide acétique et d'acide carbonique suivant la formule :



L'oxydation est effectuée par chauffage du liquide contenant environ 1,5 de bichromate de potassium par molécule d'acide lactique et 25 p. 100 de SO_4H_2 , pendant une heure à 70°, dans une fiole d'Erlenmayer de 100 cc., fermée par un bouchon de caoutchouc. Le bichromate non réduit est titré, en retour, avec de l'hyposulfite de soude, par iodométrie.

Pour les quantités d'acide lactique dépassant 1 mmg., l'erreur relative est inférieure à 2 p. 100.

Dosage de l'acide lactique

après salification

L'addition de $\text{CO}_3 \text{Ca}$ aux milieux de culture, neutralise l'acidité au fur et à mesure de sa production et permet ainsi un développement continu des microbes lactiques et, dès lors, une acidification complète des sucres. La chaux se combine avec l'acide formé et l'anhydride carbonique se dégage.

Le dosage revient donc à l'évaluation de la quantité de lactate de chaux soluble formé. On dispose, pour cela, de différentes méthodes.

A — DOSAGE DE L'ACIDÉ LACTIQUE PAR EXTRACTION A L'ÉTHÉR.

Le lactate de chaux, séparé du carbonate de chaux en excès, est acidifié fortement avec de l'acide phosphorique et on distille. L'opération est longue et la séparation complète des acides volatils difficile.

L'acide lactique (et, s'il y en a, l'acide succinique) ⁽¹⁾ reste dans le résidu de cette distillation. On l'isole en agitant fortement le liquide résiduel avec de l'éther et en distillant ensuite l'éther.

B — MÉTHODE DE SUZUKI ET HART,

Après décomposition du lactate de chaux, on épuise l'acide lactique par l'éther ; après maintes manipulations, on forme du lactate de zinc qu'on pèse.

C — MÉTHODE AU ZINC.

Mlle Sansonetti a essayé, d'après Denigès, de titrer volumétriquement le zinc pouvant se combiner à l'acide lactique produit dans les milieux de fermentation (lait, petit-lait). A cet effet, les liquides sont additionnés d'oxyde de zinc fraîchement précipité, puis on porte à l'ébullition qu'on prolonge une demi-heure. Le zinc dissous est dosé par le ferrocyanure de potassium en présence d'azotate d'urane comme indicateur. ZnO étant insoluble, la quantité mise en excès est éliminée par filtration.

Avec cette méthode, les erreurs par défaut atteignent 15 p. 100.

D — DOSAGE DE LA CHAUX DISSOUTE.

Qu'on opère par voie pondérale ou volumétrique, le dosage du calcium, sous la forme la plus générale, nécessite l'insolubilisation préalable de ce métal sous forme d'oxalate calcique $C^2 O_4 Ca$.

(1) Notons en passant que la méthode de Guerbet permet de (doser) rapidement et avec exactitude l'acide succinique d'un mélange qui en renferme moins de 1 p. 100. Le principe en est le suivant : si on sature à chaud une solution alcoolique d'acides lactique et succinique par l'eau de baryte, tout l'acide succinique précipite à l'état de succinate de baryte anhydre. Le succinate ainsi formé et le lactate de Ba, qui reste en solution, sont transformés en sulfates que l'on pèse séparément.

La limite d'erreur serait très faible : moins de 1 p. 100 pour l'acide succinique et 2 p. 100 pour l'acide lactique.

a) — DOSAGE PONDÉRAL.

La culture est filtrée et on précipite la chaux dissoute dans 20 cc. de filtrat, par une solution concentrée d'oxalate d'ammonium, en présence d'ammoniaque et de chlorhydrate d'ammoniaque, à la température de l'ébullition.

Le précipité d'oxalate de chaux obtenu est recueilli sur un filtre sans plis, lavé, desséché et calciné ; on pèse, après refroidissement, la quantité de chaux obtenue.

b) — DOSAGE VOLUMÉTRIQUE — MÉTHODE DE MAHEU.

50 cc de bouillon filtré et maintenu à l'ébullition, acidifié par 2 cc. d'acide acétique, sont additionnés de 30 cc., d'une solution décimale d'oxalate d'ammoniaque (7 g. 10 par litre).

Le précipité obtenu est recueilli sur un filtre sans plis et on le lave à l'eau froide ; puis, après avoir percé le filtre, on l'entraîne par un jet de pissette, dans une fiole conique. On lave ensuite le filtre, d'abord avec 10 cc. d'acide sulfurique au dixième, enfin à l'eau pour entraîner les dernières traces.

L'oxalate de chaux décomposé par $\text{SO}_4 \text{H}^2$, donne du $\text{SO}_4 \text{Ca}$ insoluble et de l'acide oxalique libre que l'on dose à chaud avec une solution décimale de permanganate de potassium (3 g. 16 par litre).

Ces méthodes sont longues, et leur précision n'est pas telle, qu'elle justifie une si grande perte de temps. Pour pouvoir faire de nombreux dosages dans un temps court, pour multiplier les essais, pour facilement surveiller une fermentation en cours, il nous a semblé qu'il serait préférable de pouvoir disposer d'une méthode de dosage qui ne demandât que quelques minutes, même si elle ne permettait pas une précision absolue.

C'est ce que nous avons cherché, et la méthode que nous avons employée dans nos recherches, si elle n'évite pas l'approximation toujours regrettable des dosages colorimétriques, nous semble d'une précision largement suffisante pour le but poursuivi.

Enfin, il ne faut pas oublier que, lorsqu'on dose la « chaux dissoute », on ne dose pas seulement le Ca passé à l'état de lactate de calcium. Outre l'acide lactique, les ferments lactiques développent, aux dépens des sucres, de l'acide acétique et de l'acide formique dont les sels de calcium sont solubles.

On commet donc une erreur en exprimant entièrement en acide lactique une acidité qui peut revenir à d'autres acides.

Méthode de dosage des acides de fermentation employée dans nos recherches

1°) DOSAGE DES ACIDES ORGANIQUES TOTAUX.

Application de la méthode de Van Slyke et Palmer pour le dosage des acides organiques de l'urine, elle a déjà été appliquée, par Goiffon et Nepveux, au dosage des acides organiques totaux des selles.

Principe. — L'acide chlorhydrique déplace les acides organiques de leurs sels calciques et les met en liberté. Il doit les libérer intégralement avant de se trouver lui-même à l'état libre et amener la solution à pH 2,7 point de virage de l'orangé IV.

2°) DÉTERMINATION DE L'INDICE DIFFÉRENTIEL DE DISSOCIATION DES ACIDES ORGANIQUES (Goiffon et Nepveux).

Principe. — La titration des acides organiques par la méthode précédente, donne des résultats différents selon la nature des indicateurs employés (Orangé IV, Bromophénol bleu, Diméthylamidoazobenzol, Méthylorange) dont le virage se produit à des acidités différentes. Ces différences, et ceci est en conformité avec la théorie de la titration des solutions tampons, varient selon que l'acide dosé est plus fort ou plus faible, ou selon que le mélange étudié comprend une plus grande proportion d'acides organiques forts ou faibles.

Si, donc, nous pratiquons le dosage précédent sur un autre échantillon, en arrêtant cette fois les affusions d'HCl jusqu'à pH 4 (point de virage du méthylorange), nous n'aurons mis en liberté qu'une portion des acides organiques. Or, cette portion, mesurée par le volume d'HCl titré, utilisé, est caractéristique pour chaque acide, par rapport à leur quantité totale. Elle sera d'autant plus forte que l'acide sera plus faible, c'est-à-dire que sa constante de dissociation, ou d'ionisation, (K), sera moins élevée.

Ainsi pour l'acide lactique, dont $K = 1,4 \cdot 10^{-4}$, nous aurons à $cH = 10^{-4}$, ou pH4 :

$$\frac{10^{-4}}{1,4 \times 10^{-4}} = \frac{1 \text{ (acide libre)}}{1,4 \text{ (acide salifié)}} \text{ ou } \frac{1 \text{ (acide libre)}}{1 + 1,4 \text{ (acide total)}}$$

c'est-à-dire que sur 100 parties d'acide total, il n'y a que 41,6 parties de libres.

Et pour l'acide acétique ($K = 0,182 \times 10^{-4}$), nous aurons :
 $\frac{1}{1 + 0,182}$, c'est-à-dire que 84,6 parties pour 100 de l'acide total seront libres.

Ainsi le rapport $\frac{V \text{ (pH4)}}{V \text{ (pH2,7)}}$ obtenu à la suite de ce dosage fractionné, s'il ne permet pas d'identifier les acides contenus dans un mélange, constitue cependant un indic-qualitatif de la composition de ce mélange.

Technique du dosage

1°) ACIDES ORGANIQUES TOTAUX (Dosage à pH = 2,7)

Le dosage comporte la défécation préalable du bouillon de culture de couleur brun caramel, de façon à le débarrasser des matières tinctoriales qui rendraient impossible toute comparaison colorimétrique portant sur des nuances d'orangé.

On ne peut songer à la décoloration au noir animal qui absorbe l'acide lactique en même temps que les matières colorantes.

Après avoir essayé de plusieurs défécants : acétate neutre de plomb (le sous-acétate de plomb précipite l'acide lactique), acide phosphotungstique, perchlorure de fer, etc... nous avons trouvé que la meilleure défécation, comportant les opérations les plus simples, était celle-là même utilisée par Goiffon et Nepveux pour le dosage des acides organiques des selles, pour remédier à la difficulté de filtration des dilutions fécales, à savoir le collage à l'alumine.

Modus operandi. — Lorsque le temps de culture voulu est écoulé, on prélève par décantation 15 cc. du bouillon, on ajoute V à X gouttes (selon la viscosité du liquide) de solution concentrée de chlorure d'aluminium à 36°B. et quelques gouttes de solution alcoolique de phénolphthaléine ; enfin on complète au volume de 60 cc. avec de l'eau distillée. On a ainsi une dilution au quart.

Cette solution acide est transvasée dans un verre à pied, et on y ajoute un excès de chaux hydratée pulvérisée jusqu'à ce que, par agitation, elle prenne une coloration rouge franche. On filtre alors, et on prélève 20 cc. du filtrat, que l'on neutralise au rose, par addition d'HCl au dixième, puis d'HCl décínormal, ou d'NaOH décínormale. Le pH est alors égal à 8.

On ajoute alors 5 cc. de solution d'orangé IV à 0,2 pour 1.000, puis à l'aide d'une burette de Mohr, on laisse tomber de l'HCl décínormal jusqu'à ce que soit obtenue une teinte orangée identique à celle d'une solution d'eau distillée contenant 5 cc. d'orangé IV avec 1 cc. 2 d'HCl décínormal, les deux volumes étant amenés à 60 cc. dans des éprouvettes jaugées et de même diamètre (30 mm. environ).

Pour la commodité de la comparaison nous avons imaginé et construit, avec M. Rondeau du Noyer, un comparateur très simple, formé d'une boîte de bois dont on a supprimé le couvercle et dont l'un des côtés est percé d'un petit trou circulaire ; sur la paroi interne de la boîte, opposée au trou, ou viseur, on dispose un petit miroir plan coupé en deux par le milieu et dont les morceaux ont été rapprochés bout à bout de façon à former un angle de 170° dont l'arête est tournée vers le viseur ; les parois internes de la boîte sont tapissées de blanc. Pour l'emploi, on place les deux éprouvettes dont on veut comparer les teintes de chaque côté du viseur à égale distance du miroir, dans lequel elles se reflètent côte à côte, à la manière des plages du polarimètre.

Le volume lu sur la burette, dont on soustrait 1 cc. 2, utilisé pour l'essai à blanc, représente le volume d'acides organiques en solution décínormale contenus dans les 20 cc. de filtrat correspondant à 5 cc. du bouillon de culture. En multipliant par 20, on obtient la valeur correspondant aux 100 cc. du bouillon.

De cette valeur il faut déduire celle trouvée pour un ballon témoin non ensemencé, et que l'on aura préalablement déterminée. Il n'est nécessaire de faire cette détermination qu'une seule fois avec chaque bouillon nouveau.

Exemple — Le dosage de l'acidité du ballon témoin — opération faite sur 20 cc. de filtrat correspondant à 5 cc. de bouillon — donne le chiffre suivant, lu sur la burette : 6,7

$$(6,7 - 1,2) \times 20 = 110 \text{ cc. pour 100 cc. de bouillon,}$$

Le dosage du bouillon de culture donne : 20.

$$(20 - 1,2) \times 20 = 376$$

376 — 110 = 266 cc. pour 100 cc. de bouillon.

2°) DOSAGE A PH = 4

A 20 cc. du filtrat obtenu par le collage à l'alumine, et exactement neutralisés comme précédemment, on ajoute cette fois 2 cc. de méthylorange (orangé III) à 0,2 pour 1.000, dont le virage se fait vers pH 4.

L'étalon coloré sera constitué par une solution tampon à pH 4 obtenue par la formule de Clark et Lubs (50 cc. Phtalate acide de K, N/5 + 0 cc. 4 Soude N/5 — compléter à 200 cc.) ou par le procédé de Goiffon et Nepveux (addition de 58 cc. 4 de solution normale de soude à 100 cc. de solution normale d'acide lactique).

Le dosage s'effectue exactement de la même façon que précédemment.

Supposons qu'opérant avec le même ballon témoin et le même bouillon de culture nous ayons obtenu les chiffres suivants :

Ballon témoin : 3,2, ce qui fait $3,2 \times 20 = 64$ p. 100 cc.

Bouillon de culture : 10,6.

Ce qui fait : $10,6 \times 20 = 212$ p. 100 cc.

$$212 - 64 = 148 \text{ p. 100 cc.}$$

Le rapport existant entre la masse des acides organiques mis en liberté à pH 2,7 et celle qu'on libère de leurs sels à pH 4 est de :

$$\frac{148}{266} = 56 \text{ pour 100.}$$

Deuxième Partie

CHAPITRE I

La Flore Intestinale

Rôle des ferments lactiques dans l'intestin

La bactériologie du tube digestif reste encore pour les chercheurs de l'avenir, un sujet plein de mystères, de difficultés, d'attraits et de surprises,

Dr E. LAGRANGE.

« Au milieu de ses humeurs et de ses tissus strictement fermés aux influences extérieures, l'animal est muni d'un conduit exposé à toutes les souillures, siège de fermentations intenses : le tube digestif. D'une part, le milieu interne sévèrement spécifique, soustrait aux facteurs étrangers par des membranes et des mécanismes admirablement réglés, d'autre part, le réceptacle de toutes les contaminations, le repaire de germes redoutables pour l'intégrité de ce milieu, telle est l'organisation que nous retrouvons d'une façon si banale dans le règne animal que nous songeons à peine à le remarquer » [187].

Le tube digestif est normalement habité par une foule de microorganismes qui peuvent pénétrer dans sa cavité par la bouche, l'anus ou le sang. Les microbes ingérés sont le plus souvent rendus inoffensifs par l'action du suc gastrique, en tous cas, ils ne pullulent dans l'estomac qu'en cas de troubles

pathologiques. Ils commencent à se développer dans l'intestin grêle, le suc intestinal n'étant doué d'aucune propriété bactéricide, et sont innombrables dans le gros intestin. Ils jouent un grand rôle dans la physiologie et dans la pathologie intestinales et leur étude a fait l'objet d'une multitude de travaux.

La quantité des bactéries qui composent la flore intestinale est très variable. A l'état normal, les parties initiales du tractus intestinal (duodénum et jéjunum) renferment peu de bactéries. Cet état est conditionné par la réaction légèrement acide du contenu intestinal sous la dépendance de la sécrétion gastrique. (1) Le suc pancréatique possède également une action empêchant leur développement.

Ils croissent progressivement jusqu'à la fin de l'iléon, où ils prolifèrent vraiment avec activité, et sont innombrables au cæcum, qui est leur lieu d'élection. Au fur et à mesure que l'on avance vers l'anus, leur nombre diminue ; la quantité de certains d'entre eux diminue en raison directe du temps de séjour des matières dans le côlon, ce qui explique que les selles des constipés en sont moins riches que celles des diarrhéiques. Par contre la diarrhée semble s'accompagner d'une diminution des microbes et du nombre total des bactéries par rapport à la selle normale.

Normalement nous éliminons 5 g. de microbes (poids sec) par jour, c'est-à-dire le sixième ou le cinquième du poids de la selle ; un quart ou un tiers de la selle fraîche est composé de corps microbiens dont les espèces les plus fréquemment isolées, et qui sont de beaucoup les plus abondantes, (de 4 à 500 fois), se classent de la sorte :

3 anaérobies, prenant le Gram, et au nombre desquels se range le *B. bifidus* Tissier.

4 facultatifs, dont 3 prenant le Gram, et au nombre desquels se rangent des bacilles du genre *acidophilus* de Moro, et le dernier ne prenant pas le Gram, le coccobacille *coli typhimorphe*.

(1) Au cours d'états pathologiques, et notamment quand il y a de la fièvre, la sécrétion gastrique diminue, le contenu duodénal devient alcalin et, par suite, propice au développement des microbes, duquel il résulte des troubles digestifs plus ou moins sévères [6].

La plupart des microbes rejetés par l'intestin sont morts. Certaines espèces succombent à partir du cæcum et font place à d'autres ; dans le gros intestin, grâce à la sécheresse de plus en plus grande des matières, plus encore peut-être qu'à la raréfaction des matériaux nutritifs, grâce aussi à l'excès de toxines bactériennes, et à la formation de substances autolytiques, les microbes meurent en quantité, et ce sont leurs corps sans vie qui peuplent les champs du microscope. Aussi l'étude de la flore intestinale donne-t-elle des résultats qu'il faut prudemment interpréter ; si elle renseigne sur la présence de certains microorganismes, elle ne peut en aucun cas donner une idée de leur proportion réciproque.

Ainsi, Cohendy a trouvé les chiffres suivants, suffisamment éloquentes par eux-mêmes :

1) *A la numération directe :*

Selles normales (120 g. en 24 heures) : 143.870.000 microbes pour 1 mmg.

Selles diarrhéiques (150 g. en 24 heures) : 103.600.000.

2) *A la numération parensemencements :*

Selles normales : 4.261.660 (anaérobies : 77 pour 100)

Selles diarrhéiques : 1.191.200 (anaérobies : 58 pour 100)

On observe que les éléments à Gram négatif sont rares dans les cultures, en comparaison de leur prédominance nette à la numération directe (où ils correspondent environ aux 3/4 de la totalité). La plus grande part de ces derniers représente, en effet, des microbes morts avant la fixation des préparations, et qui, de ce fait, ne restent plus colorés par la méthode de Gram.

La flore iodophile est absente, sauf quelques amas isolés de clostridies dans les parties les plus molles des selles. (1)

Les microbes de l'intestin sont des bactéries de fermentation et des bactéries putréfiantes, ou d'alcalinisation.

(1) De Sandro a décrit en 1912 plusieurs variétés d'amylobacter dont la présence dans les fèces de l'homme serait pour lui constante. La plus fréquente serait représentée par un microbe presque sphérique de la grandeur des hématies humaines.

Chez l'homme sain, avec un régime mixte, ce sont les fermentations qui dominent d'abord, sans doute parce que la rapidité de l'attaque des aliments ternaires est plus rapide que celle des protéiques. Puis les fermentations s'éteignent au fur et à mesure que les substances fermentescibles s'épuisent ; les putréfactions se superposent à elles progressivement, aux dépens des sécrétions de la paroi intestinale et finalement dominant ; aussi la réaction de la selle moulée normale devient-elle alcaline.

La question de la putréfaction intestinale a, depuis très longtemps, passionné de nombreux médecins. Comment, en effet, ne pas lui attribuer ces indispositions si fréquentes, ces dépressions inexplicables, ces dystrophies lentes, chez des gens toujours bien portants, quand on la voyait varier, augmenter ou décroître avec tous ces troubles ? Et ces malaises, ces indigestions, la constipation, la diarrhée, ne formaient-ils pas la majeure partie des ennuis que le médecin avait à traiter tous les jours ? La thérapeutique, celle du moyen-âge, comme celle de nos jours, est encombrée de procédés destinés à palier les méfaits de la putréfaction intestinale. Chercher à maintenir la « liberté du ventre », à débarrasser l'organisme des « humeurs peccantes », était l'objet de toutes les recherches. L'âpre critique de Molière sur l'éternel « purgare clysterum donare » des médecins d'Argan, montrait la grande préoccupation des médecins du XVII^e siècle [329].

Pour soulager votre migraine, j'ai le remède assuré.

Il faut avoir soin, Claudeine, de vous faire Clistérisé.

(L'apothicaire charitable), (1)

Dès le début de l'ère pastorienne, on se mit à chercher la solution du problème, et de tous côtés parurent des travaux sur la flore microbienne de l'intestin. Deux noms principaux, ceux d'Escherich et de Metchnikoff qui ont, non seulement travaillé eux-mêmes à cette question si difficile, mais qui ont su réunir des travailleurs et former des écoles d'où sont sortis la majeure partie des travaux intéressants.

(1) D'après une estampe ancienne,

Il fut bientôt démontré que, dans tous les troubles digestifs qui ne sont pas d'origine toxique, on peut trouver dans les selles, des microbes autres que ceux qui composent la flore normale. Ces espèces sont évidemment variées, mais elles apparaissent avec les premiers symptômes de la maladie et disparaissent avec elle.

Avant de poursuivre l'étude de la putréfaction intestinale, il importe de connaître la composition de la flore normale de l'intestin humain, différente, selon qu'on s'adresse au nourrisson, à l'enfant ou à l'adulte, et quelles sont les espèces de microbes dont la prolifération est génératrice des troubles constatés.

Flore de l'intestin humain

A. — FLORE DU NOURRISSON (Tissier [323, 324, 325, 330]).

La selle de lait, avant de s'établir d'une façon définitive, est précédée par l'apparition de selles épaisses, d'un noir verdâtre, appelées *méconium*, possédant des caractères spéciaux.

Chez le nouveau-né, le *méconium* est stérile ; ce n'est qu'au bout de quelques heures, vers la 10^e ou la 20^e heure, par suite des contaminations externes, qu'il se produit avant même tout essai d'alimentation, que le contenu intestinal devient septique. Mais du fait d'une alimentation parfaitement adaptée pour l'espèce, le lait maternel, la putréfaction intestinale qu'on voit s'établir si nettement dès les premières heures de la vie, se trouve bloquée par la prolifération d'un ferment mixte fort, le *B. bifidus*. Sa culture est très abondante et inoffensive pour la muqueuse qu'elle protège contre le retour des putréfiants éliminés ou l'invasion des espèces étrangères ; on trouve 85 à 90 pour 100 de colonies de *B. bifidus* et de *B. acidophilus* (il n'a pas été fait de numération comparée entre ces 2 espèces microbiennes. Tissier, à qui l'on doit les travaux sur la flore du nourrisson, y niait d'ailleurs la présence de l'*Acidophilus*) contre 6 à 8 p. 100 de *B. coli*, et 4 à 7 p. 100 d'*entérocoque*. Chez le nourrisson au sein, en bonne santé, n'ayant jamais présenté de troubles digestifs, la flore, dans la

majorité des cas, ne contient que ces quatre espèces auxquelles s'ajoute quelquefois le *B. lactis aerogenes*.⁽¹⁾

Il a été démontré que cette flore ne participe pas activement à la digestion, mais n'apparaît, surtout le *B. bifidus*, que comme un antagoniste actif des bactéries de putréfaction. Cette flore protège par cela même l'intestin, contre les maladies infectieuses provoquées par l'activité de ces bactéries. L'harmonie est parfaite entre cette flore intestinale et le développement de l'organisme. Toute intervention dans le mode d'alimentation normale ne peut que rompre cette harmonie ; elle s'accompagnera du peuplement de l'intestin par divers microbes ; le *B. bifidus* cèdera la place aux autres microbes, et ainsi disparaîtra la protection normale contre l'invasion des microbes étrangers. On verra se produire dans l'intestin, une ébauche plus ou moins marquée de putréfaction qui ne sera pas toujours bien arrêtée plus tard. Au lieu du développement régulier, d'une résistance parfaite aux infections digestives, on aura une croissance irrégulière, des accidents sans cause apparente, menaçant constamment la vie du nourrisson. Aussi la mortalité est-elle beaucoup plus considérable parmi les enfants allaités artificiellement que parmi ceux élevés au sein.

B. — FLORE DES ENFANTS (Tissier [326, 329]).

La flore de l'enfant se modifie progressivement lorsque celui-ci passe de l'alimentation lactée exclusive à une alimentation plus variée analogue à celle de l'homme adulte, c'est-à-dire au cours de la période dite de sevrage, qui commence entre un an et 18 mois et s'étend jusqu'à la 3^e ou la 4^e année. Elle se complète par quelques *B. exilis*, des anaérobies stricts, dont le *B. perfringens* ; puis, autour de cette flore primitive vient se grouper toute une série d'espèces nouvelles qui ont tendance à s'acclimater dans l'intestin. Enfin les aliments quotidiens plus ou moins salis par les manipulations des vendeurs et des cuisinières apportent un contingent nouveau qui, lui, ne séjourne pas.

(1) La coloration par la méthode de Gram d'un frottis de selles de nourrisson au sein n'y décèle que des bâtonnets prenant le Gram ; c'est le tableau coprologique qu'Escherich appelait *Blaucolibacilliose* : présence de colibacilles bleus (Gram positifs).

En schématisant un peu les faits, on peut dire, qu'il y a chez un enfant normal de 5 ans, alors que le sevrage est complètement terminé : une flore intestinale fondamentale, une flore surajoutée et, enfin, une flore de passage formée d'hôtes d'un jour.

La flore intestinale fondamentale, la plus importante, vestige de celle du nourrisson et de composition analogue, comprend d'abord : le *B. bifidus*, le *B. acidophilus*, l'entérocoque, le *B. coli*, et, accessoirement, le *B. exilis*, le *B. III de Rodella* ; elle est fixe et constante, et son action fermentative reste encore prépondérante.

La flore surajoutée, 4 fois moins nombreuse que la première, forme à peine 10 à 30 pour 100 du total des bactéries ; elle comprend une dizaine d'espèces différentes peu actives, et variables en nombre et en proportions suivant le régime (*Staphylococcus parvulus*, *Diplococcus orbiculus*, *B. perfringens*, *B. funduliformis*, *Coccobacillus præacutus*, *Coccobacillus oviiformis*, *B. ventriosus*, *B. capillosa*, levures.)

Chez l'enfant bien alimenté, il n'y a pas, à proprement parler, de putréfaction intestinale. Il ne s'en produit qu'une ébauche, vite bloquée par l'action des bons ferments.

Tous les modes d'alimentation qui favorisent cette action d'arrêt seront les bons régimes : régime végétalien (1), lacto-végétalien, ancien régime des campagnes, ceux qui favorisent le mieux le développement de l'enfant et lui éviteront les multiples infections digestives.

C. — FLORE DE L'ADULTE.

Il n'existe pas, pour la flore microbienne des selles de l'adulte, de travail d'ensemble comparable à ceux que nous possédons pour le nourrisson et pour les jeunes enfants. Des travaux analogues avaient bien été commencés avant la guerre. Ils ont été abandonnés à ce moment pour des travaux bactériologiques plus urgents. Bien qu'incomplets (2), ils nous

(1) Le végétalien est celui qui n'utilise comme aliment que les fruits et les légumes, tandis que le végétarien se nourrit de végétaux, de lait et d'œufs.

(2) Tissier travaillait la flore de l'adulte sans avoir publié encore ses observations que la mort vint interrompre (1926).

montrent cependant qu'en général la flore de l'adulte se rapproche beaucoup de celle des jeunes enfants. On peut retrouver chez un homme de 40 à 50 ans tous les microbes de la *flore fondamentale*. Chez un homme bien portant on trouve encore une grande proportion de *B. bifidus*, *B. exilis*, *B. acidophilus* ; il n'est pas rare de compter 20 colonies d'entérocoque pour une de *B. coli*.

On trouve également tous les microbes de la *flore surajoutée*, en nombre plus ou moins grand, suivant l'alimentation journalière.

La *flore de passage* est plus variée, ce qui se comprend aisément avec les ressources de la cuisine actuelle.

D'une manière générale le *B. coli* prédomine dans tout l'intestin ; dans le grêle se trouve le *B. lactis aerogenes*, et dans le cæcum, le *Clostridium butyricum*, le *Proteus*, l'entérocoque, etc...

Il est bien probable que les fermentations dans les voies digestives se produisent comme chez l'enfant : putréfaction croissante du jéjunum au cæcum, réduite également à une simple action sur des albumines hydrolysées, se produisant dans l'iléon et le cæcum, et bloquée dans le côlon par le développement des bacilles acidogènes.

L'intense pullulation de ces bactéries normales et acclimatées à ce milieu, empêche la prolifération d'espèces étrangères et en protège l'organisme. Il existe d'ailleurs entre ces espèces normales une sorte d'équilibre, d'antagonisme, qui entrave le développement exclusif d'une seule.

Il est peu de microbes spécialisés ; ils attaquent la majeure partie des substances alimentaires, mais il en est cependant beaucoup dont l'activité est surtout soit protéolytique, soit amylolytique, d'où la classification grossière, en flore des fermentations ou des putréfactions. Le développement des bactéries acides nuit à celui des bactéries alcalines et réciproquement ; et la flore prédominante dépendra surtout du milieu dont elle est l'image exacte. Etant donné un même régime, la flore bactérienne variera suivant les différents étages de l'intestin, selon le degré d'élaboration des aliments et la qualité nutritive du milieu, selon l'abondance des sécrétions de la muqueuse. C'est ainsi que dans la région iléo-cæcale où, nous l'avons vu, les microbes prolifèrent avec le plus d'activité, le contenu intestinal a nettement des caractères de fermentation, parce qu'entre autres aliments on trouve

certains sucres, tels que le galactose et surtout le lactose, qui fermentent d'autant plus facilement qu'ils sont solubles. (Les autres sucres, facilement résorbables, n'arrivent pas au côlon.)

*
**

Les bactéries qui s'alimentent surtout d'hydrocarbonés, avec sous-produits acides, sont des *ferments mixtes*, capables d'attaquer à la fois les matières protéiques, les hydrates de carbone et les graisses, bien que leur action ne se porte pas également sur ces 3 catégories d'aliments ; ils ont au contraire, une prédilection marquée pour les hydrates de carbone. Par contre, les bactéries alcalinisantes semblent avoir pour aliment de prédilection les matières protéiques ; ce sont des *ferments simples* parmi lesquels, comme parmi les ferments mixtes, on distingue :

— Les *ferments protéolytiques* attaquant simultanément les albumines naturelles.

— Les *ferments peptolytiques* attaquant seulement les albumines déjà hydrolysées.

— Les *ferments peptoaminolytiques* attaquant de préférence les acides aminés.

Parmi les microbes les plus intéressants que l'on peut rencontrer dans la putréfaction intestinale on peut citer :

I. — FERMENTS MIXTES PROTEOLYTIQUES.

A. — GROUPE DES PYOGÈNES : *Proteus vulgaris*.

B. — GROUPE DU B. PERFRINGENS : *B. perfringens*.
B. bifermentans.

C. — GROUPE DU VIBRION SEPTIQUE : *B. sporogenes*.

II. — FERMENTS MIXTES PEPTOLYTIQUES.

Ces ferments, qui n'entrent en jeu que dans les milieux abondamment sucrés, comprennent les « microbes utiles » :

B. bifidus Tissier.

B. acidophilus Moro.

B. exilis Tissier.

L'entérocoque.

III. — FERMENTS MIXTES PEPTOAMINOLYTIQUES.

FERMENTS PHENOLOGÈNES :

B. lactis aerogenes Escherich (1).

B. aminophilus A. Berthelot et D. Bertrand.

FERMENTS INDOLOGÈNES : *B. coli commune*.

B. coli communior.

IV. — FERMENTS SIMPLES PROTÉOLYTIQUES.

B. mesentericus.

V. — FERMENTS SIMPLES PEPTOLYTIQUES.

Diplococcus orbiculus Tissier

B. ventriosus »

B. capillosus »

B. funduliformis Halli

B. tertia Rodella

Quel est le rôle joué par ces bactéries ? Elles concourent à la digestion ; elles possèdent des ferments analogues à ceux que sécrète le tube digestif. Elles transforment le saccharose, saccharifient l'amidon, liquéfient les albumines, les désagrègent en peptones et en acides aminés, transforment la cellulose en galactose.

A. — Actions dues aux fermentations

Les fermentations aux dépens des hydrocarbonés sont de deux sortes : ou bien elles aboutissent à la formation d'alcool et de gaz carbonique, ou bien, plus souvent, dans l'intestin,

(1) Czaplewski attribue au *B. lactis aerogenes* de très nombreuses diarrhées, dysentériques survenues à Cologne en 1916-1917 — et il croit que cette bactérie doit jouer un rôle important dans la production d'entérites diverses et notamment, des diarrhées de nourrissons.

elles donnent naissance à des acides gras fixes (lactique, succinique), ou volatils (acétique, butyrique, valérianique, propylique, propionique, etc...)

L'acidité du milieu, ainsi créée, favorise, dans une certaine mesure, les bactéries des fermentations qui poussent pour la plupart sur milieu acide, et entravent celles des putréfactions qui se développent surtout sur milieu alcalin. Les fermentations qui se produisent au cæcum peuvent donner normalement à son contenu une réaction légèrement acide ; cette acidité peut, si elle s'exagère, amener des modifications intéressantes dans la composition du contenu cæcal : les sels alcalino-terreux entrent en solution, les savons calcaires et magnésiens sont, dans une certaine mesure, dédoublés en sels solubles et acides gras (Goiffon et Haristoy). La muqueuse intestinale est très sensible à l'action des acides de fermentation. C'est à leur pouvoir irritant, bien étudié par Bokai, qu'est dû en grande partie l'effet laxatif des régimes hydrocarbonés : lactose, farineux et légumes, agar-agar. Schmidt pensait même que le défaut de cet excitant normal était la condition même de la paresse colique des constipés. Il est certain que notre intestin a besoin de ce coup de fouet physiologique pour déclancher les ondes péristaltiques et que ces fermentations normales sont nécessaires à la santé (Metchnikoff). Cependant elles peuvent être mal tolérées, alors qu'elles ont une intensité normale, par des muqueuses trop sensibles ou des systèmes nerveux locaux trop excitables ; l'intestin répond alors par un réflexe moteur exagéré (diarrhée motrice de Bickel) à des excitants qui seraient normaux pour des intestins normaux. Il y a, dans ce cas, hyperfermentation relative qu'il faut considérer et traiter comme une hyperfermentation absolue.

Quand les fermentations sont exagérées, elles sont le plus souvent bien supportées par un intestin sain ; mais que que l'intestin soit malade, il réagit, soit par la diarrhée (dyspepsie de fermentation), soit le plus souvent par une exsudation de mucus, de nucléo-albumines ou une desquamation intense ; ces produits albuminoïdes putréfient aussitôt et leur putréfaction peut prendre le pas sur les fermentations. On a alors un syndrome de cõlite avec putréfaction, dont l'origine a été un excès de fermentation. Ce sont ces troubles intestinaux, dont le diagnostic coprologique est fort difficile et que le régime des farineux ne guérit pas, que les médications lactiques aggravent, malgré toute logique apparente,

Sans aller aussi loin que H. Fischer et, surtout Rosell, qui prétendent que la plupart des cas de putréfactions intestinales sont secondaires à un excès des fermentations, Goiffon estime que ces cas sont fréquents.

En outre les fermentations exagérées peuvent être le point de départ d'intoxications dues aux acides formés, dont certains, fortement tensio-actifs (caprylique, caproïque), sont, par conséquent, nettement hémolysants, et d'autres, (acide butyrique), exercent une action inhibitrice sur les terminaisons nerveuses.

Normalement, ces acides sont neutralisés, au fur et à mesure de leur production, par l'ammoniaque des putréfactions et par les alcalins et terres venant du sang. Mais il faut faire remarquer à ce sujet :

1^o) Que les savons solubles d'ammonium, dont l'absorption par la muqueuse est si facile, sont doués d'une action hémolytique non négligeable.

2^o) Qu'un excès d'activité de fermentation peut, dans certains cas, provoquer une soustraction d'alcalin. Celle-ci mène à une acidose relative, et enlève au sang un excès de chaux et de magnésie qui, attiré dans la lumière intestinale, peut-être évacué et soustrait à l'organisme grâce à un transit accéléré. Mais d'autre part, il ne faut pas oublier que les butyrates, acétates, lactates, etc.. de chaux ainsi formés sont solubles, résorbables par conséquent, par l'organisme. C'est ainsi que l'acide lactique, comme l'acide chlorhydrique, en se combinant aux sels de calcium, semble, tout au moins à faible dose, augmenter l'assimilation de la chaux alimentaire [194] et, actuellement, de nombreux auteurs américains préconisent l'ingestion de lactose, si aisément fermentescible, pour favoriser le bilan calcique des nourrissons. L'absence, ou la diminution des fermentations, serait donc un facteur de décalcification, plutôt que leur présence en quantité modérée. Quoiqu'il en soit, on voit donc que la théorie de la déminéralisation par fermentation aurait besoin d'être revue.

B. — Actions dues aux putréfactions

La putréfaction est l'ensemble des fermentations des corps qui composent les tissus morts attaqués par les microbes, c'est-à-dire les matières protéiques, les matières hydrocarbonées et les graisses ; c'est en somme une digestion microbienne qui s'opère en milieu alcalin. Dès 1863 Pasteur [243]

en a tracé une esquisse définitive. Il vit que le premier rôle y est joué par le vibrion anaérobie, et que les autres germes préparent ou activent son œuvre. Il distingua bien le *faisandage*, c'est-à-dire l'autolyse du tissu, sous l'influence de ses diastases, de la *putréfaction vraie*, fermentation microbienne. Mais le milieu intestinal est resté en dehors, sinon de ses préoccupations et de ses tentatives, au moins de la liste de ses conquêtes.

Bienstock, précurseur, publie en 1884, son premier travail [39]. Il ne reste guère à en retenir que le nom du « *Bacillus putrificus coli* », qui est rare dans le côlon, et le mérite d'avoir identifié, bien mal il est vrai, un microbe de la « putréfaction albumineuse ».

En 1885, apparaît le travail fondamental d'Escherich, sur la flore du nourrisson. En remontant aux débuts de la vie extra-utérine, il observait l'établissement de la flore fondamentale, mais avec une technique insuffisante.

Il fallut attendre la thèse d'Henry Tissier, parue en 1900, pour voir tirée au clair cette question difficile, à laquelle Metchnikoff allait, aussitôt après, imprimer, de toute son ardeur, une nouvelle impulsion. Puis vinrent les travaux de Kerry, Neucki, Bovet, Hanser (*Proteus vulgaris*), Kuhne, Foa et Bonome, Titocarbone, Gaillard, etc...

Les putréfactions intestinales se font aux dépens des albuminoïdes venant de l'alimentation, et non absorbés, et surtout aux dépens des sécrétions de la muqueuse elle-même.

Dans tous les processus putrides, il existe deux phases : celle des ferments mixtes et celle des ferments simples. Les ferments mixtes protéolytiques attaquent simultanément les matières hydrocarbonées, les graisses et les corps protéiques. Le débit des diastases tryptiques baisse à mesure que l'acidité croît. Les peptolytiques, en produisant de l'ammoniaque, neutralisent le milieu. — Les ferments simples protéolytiques interviennent alors et précipitent la décomposition des protéiques. Les peptolytiques achèvent la désintégration moléculaire.

Dans les milieux contenant moins de 10 p. 1.000 de sucre, ces actions microbiennes sont concordantes. Dans les milieux contenant une quantité plus grande de sucre, les ferments mixtes bloquent, par l'acidité produite, les diastases des ferments simples ; leurs actions sont discordantes ; l'intervention d'un organisme plus élevé, détruisant les acides, est nécessaire pour la reprise de la putréfaction.

Dans les milieux d'où ne peuvent s'échapper les déchets ammoniacaux, l'alcalinité produite arrête également la culture. L'intervention d'un champignon est encore nécessaire pour rétablir la neutralité.

Les produits de putréfaction sont extrêmement complexes : dérivés de la désagrégation des acides aminés, ils tendent comme produit ultime vers l'ammoniaque, en laissant un certain nombre de corps aromatiques répondant à l'acide aminé d'où ils proviennent : indol, scatol, phénol, mercaptan, CH_4 , H_2S . Enfin l'activité anaérobie des microbes provoque la formation de substances réductrices.

Il était admis dans tous les traités classiques que les produits formés par les bactéries putréfiantes sont nuisibles pour l'organisme et qu'ils causent cette « auto-intoxication » signalée dans les travaux de Bouchard et de ses élèves.

Cette assertion, qui s'appuyait surtout sur des recherches poursuivies avec des extraits de matières fécales, ne fut pas contestée jusqu'aux recherches de Roger et Garnier [275 - 277] et aux expériences de Falloise, qui montrèrent, que la toxicité du contenu de l'intestin n'est pas en rapport avec l'intensité des putréfactions intestinales, et que les matières renfermées dans l'intestin grêle, et notamment dans le duodénum, sont plus nocives que les substances putrides du gros intestin. Ces matières le deviennent de moins en moins à mesure qu'on s'approche du rectum. Les selles délayées dans de l'eau physiologique, et mises à l'étuve, le sont également de moins en moins. L'antagonisme microbien continue dans les excréta jusqu'à ce que ceux-ci ne contiennent plus d'hydrate de carbone (fermentation précoce de A. Schmidt).

Cybulski et Tarchanoff arrivèrent à des conclusions analogues.

La théorie classique de l'auto-intoxication intestinale était ébranlée. En Allemagne, Finkelstein [91] prend résolument parti contre elle, et va jusqu'à nier l'origine microbienne des troubles digestifs. Pour lui, « non seulement la croissance défectueuse, les vomissements, les diarrhées, mais aussi les graves symptômes d'intoxication générale, l'ascension de la température jusqu'aux degrés les plus élevés de l'état fébrile, les accidents cholériformes et semblables à la lièvre typhoïde, peuvent être produits par une digestion

anormale de la nourriture, et cèdent toujours à une diète appropriée ». En France, Nobécourt et Rivet adoptèrent cette manière de voir.

C'est alors, en 1910, que Metchnikoff qui avait d'abord accepté la théorie classique, résolut de reprendre la question. Depuis longtemps déjà, il soutenait cette idée que le vieillissement précoce est l'œuvre de nos microbes intestinaux. La putréfaction intestinale gênait l'épanouissement de l'homme, c'était une de ces « désharmonies », qu'il s'attachait à rencontrer dans la nature [215].

Metchnikoff fit de sa thèse un principe d'apostolat et avec de nombreux collaborateurs et une énergie farouche donna à la pathologie intestinale une impulsion nouvelle. Pour lui, le colibacille était le grand ennemi, parce que ubiquitaire et sournois. Hôte habituel, sinon normal, du tube digestif de l'homme, on le trouve toujours en très grand nombre dans le gros intestin. A l'état normal, il est rare de le rencontrer dans l'intestin grêle, mais dans certains cas pathologiques, on peut même le trouver dans l'estomac, et il a été rendu responsable de l'inflammation de la vésicule biliaire et de ses canaux, du canal hépatique et du foie lui-même. En outre, de nombreux auteurs soupçonnent le colibacille d'être responsable du rhumatisme articulaire.

Le *coli* peut utiliser à la fois les hydrates de carbone et les protéines à partir desquels il produit « les poisons intestinaux, facteurs de sclérose, c'est-à-dire de vieillesse ». Le sang provenant de l'intestin et chargé de ces produits passe à travers le foie qui, normalement, convertit les phénols en éthers-sulfates et en composés glycuroniques (Neucki et Pawlow). On croyait d'après Kobert, Baumann et son élève Stolnikow, que ces corps n'étaient plus nocifs. Metchnikoff démontra que, moins dangereux que les phénols, ils pouvaient encore tuer le Cobaye, par injection sous-cutanée, à la dose de 0 g. 57. Il s'attaqua ensuite aux *phénols* ; il en fit ingérer à des Lapins de petites doses inoffensives, pendant plusieurs semaines et constata qu'il se produisait de l'athérome artériel (ou dégénérescence de la tunique interne des artères) dans 61 p. 100 des cas. Chez le Macaque, il put, après 66 jours d'expériences, constater de l'artériosclérose et chez le Cobaye, un peu de sclérose hépatique. Il fit faire par son élève Ohkoubo les mêmes recherches avec de l'*indol* et du *scatol*. Tandis que ce dernier corps paraissait inoffensif, l'*indol*, ingéré plusieurs semaines de suite, provoquait chez le Lapin,

de l'atherome et de l'infiltration périvasculaire du foie et du rein. N'était-ce pas la lésion qu'on observait surtout chez le vieillard, l'artériosclérose ? Ces substances n'étaient-elles pas les causes habituelles du vieillissement précoce ? [212]. Encouragé par ces résultats, Metchnikoff fit entreprendre de nouvelles recherches par Dratchinski, puis par Wladyczko qui put voir, dans le cerveau du Cobaye ainsi intoxiqué, la prolifération des cellules névrogliques, et une véritable neurophagie comme dans la vieillesse.

Les substances de la série aromatique ne sont pas les seuls poisons de la flore intestinale. Metchnikoff [212] a démontré que, dans le tube digestif de l'homme, se trouvent des bacilles anaérobies protéolytiques capables de sécréter de vraies toxines. Mais jusqu'à présent il n'a pas été possible de leur attribuer quelque rôle dans les phénomènes de la dégénérescence sénile. De même les ptomaines des microbes intestinaux se sont montrées incapables de provoquer ces lésions (Dab et Dixon, Tcherwotski, Berthelot et Bertrand).

Ce sont donc les phénols et l'indol qui se présentent comme les facteurs les plus importants de cette auto-intoxication chronique d'origine bactérienne qui aboutit à l'artériosclérose et au vieillissement précoce.

Cette thèse a été combattue par l'école allemande, pour qui les troubles toxiques liés à des maladies intestinales, seraient dûs à la résorption d'albumines incomplètement dégradées, insuffisamment dénaturées qui, normalement, ne devraient pas franchir la muqueuse. Or les lésions de la muqueuse intestinale permettent à des substances encore colloïdales, non dialysables, de passer dans le milieu sanguin. D'autre part, les substances protéiques plus complexes que les acides aminés et d'origine étrangère à l'organisme ne sauraient y pénétrer sans y produire des phénomènes toxiques. En outre, les allemands reprochaient à Metchnikoff et à ses continuateurs, Cohendy, Belonowsky, Combe de Lausanne, etc... de n'avoir jamais pu mesurer par un indice quelconque, tel que l'indice urinaire, les putréfactions, cause de l'intoxication. Or, dans les cas d'auto-intoxication, bien classés par la clinique, les phénols urinaires sont constamment très augmentés. Du taux normal de 0 g. 20 par 24 heures, ils montent chez ces malades à 0 g. 50 et jusqu'à 1 g. 20. Un régime antiputride, les fait diminuer, en même temps que s'atténuent les phénomènes cliniques. Les phénols, qui sont peu transformés à leur passage hépatique, semblent donc une mesure, ou un

index, des résorptions toxiques intestinales. Aussi leur dosage dans les urines devient-il le complément indispensable de l'investigation coprologique.

Comme conclusion pratique de ses recherches, Metchnikoff se mit alors à chercher quel pouvait être le régime idéal pour l'Homme, c'est-à-dire le régime susceptible d'entraver, sinon de supprimer, les fermentations nocives. Or, le meilleur moyen que nous possédions pour combattre la putréfaction intestinale, insignifiante chez l'Homme sain, bien supportée pendant de longues années, mais qui peut devenir un danger si on la laisse se développer, est d'adopter d'abord, un régime alimentaire contenant moins de substances albuminoïdes, et plus d'hydrates de carbone et de graisses. Mais il se peut que, malgré tout, la putréfaction persiste ; Metchnikoff affirme alors qu'on peut la combattre en mettant en lutte le bacille lactique avec les microbes, hôtes habituels de l'intestin.

Les bactéries protéolytiques ne pouvant, en effet, se développer qu'en milieu alcalin, si l'on arrive à modifier la réaction de l'intestin, à la rendre légèrement acide, on peut espérer d'entraver en partie le développement de la flore putréfiante. Depuis longtemps déjà, l'acide lactique lui-même était prescrit dans les cas de diarrhées et surtout de gastro-entérites infantiles, dans le but de combattre l'accroissement exagéré du nombre des microbes de l'intestin, cause directe de ces affections. Mais par le traitement à base de ferment lactique, on a espéré plus ; l'acide lactique devant, en effet, prendre naissance au sein même de la région infectée, on a escompté une action plus énergique et un résultat plus marqué.

Différentes espèces de ferments peuvent être utilisées dans ce but thérapeutique. Nous allons donner des plus importantes d'entre elles une description sommaire, que nous ferons suivre d'une étude des laits fermentés où on les trouve communément.

CHAPITRE II

Les ferments utilisés en thérapeutique

Description des espèces les plus importantes

I. — *Bacillus lacticus* Pasteur.

Morphologie. — Éléments en bâtonnets courts, immobiles, mesurant de $0\ \mu\ 6$ à $2\ \mu\ 3$ de long, sur $1\ \mu\ 7$ de large, isolés, 2 par 2 ou en chaînettes courtes ; pas de spores.

Coloration. — Se colore par les couleurs d'aniline. Prend le Gram.

Cultures. — Aérobie. Se cultive sur tous les milieux.

GÉLATINE. — *En plaque* : En 36 à 48 heures, petites colonies grises, porcelanées, qui s'étalent à la surface, bords sinueux, transparents, centre opaque qui devient un peu jaunâtre. — *En pique* : Dans le canal, petites sphères et, à la surface, culture grisâtre luisante. — *En stries* : Petites colonies circulaires confluentes, formant une bande blanchâtre crémeuse.

GÉLOSE. — Bande laiteuse, très luisante ; il apparaît toujours des bulles de gaz dans la masse.

POMME DE TERRE. — Culture crémeuse, d'un blanc jaunâtre, assez épaisse.

BOUILLON. — Trouble rapide, voile blanchâtre, fragile en surface.

LAIT. — A + 28°, coagule en 18 à 24 heures ; masse gélatineuse, homogène, avec canalicules. Bulles gazeuses, dans la masse.

CASÉINE. — Pas modifié. (Pas d'action peptonisante).

MILIEU SACCHAROSÉ TOURNESOLÉ. — Rougit rapidement par production d'acide lactique.

Inoculation au Cobaye. — D'après Wurtz et Lindet cette espèce serait pathogène.

II. **Bacillus bulgaricus** Massol.

SYN. : *Thermobacterium bulgaricum*. O. Jensen.

Morphologie. — Le bacille bulgare se présente sous la forme d'un gros bacille d'un aspect voisin du bacille charbonneux, mais ses articles sont plus courts (2 à 20 μ), et il ne donne pas de spores. Sur milieu solide, les éléments se raccourcissent et forment des chaînes de 2 à 10 articles, souvent sinueuses comme celles du *B. acidophilus*.

Nombreuses formes d'involution. Dans les cultures de plusieurs jours, le protoplasme se condense au milieu de chaque article, ce qui donne à ce bacille, lorsqu'il est en chaînes, l'aspect d'un gros streptocoque. Cette forme de résistance est aussi une forme de moindre activité, ce qui démontre la nécessité des réensemencements répétés.

Coloration. — Les matières colorantes simples agissent diversement sur le bacille bulgare. Alors que le bleu de méthylène ne le teinte que très lentement, il se colore beaucoup mieux par la fuchsine, la thionine ou le violet de méthyle,

auxquels il est utile d'ajouter de l'acide phénique comme mordant, de façon à renforcer l'intensité de la coloration. La fuchsine de Ziehl le colore très bien.

Il prend le Gram quand il est vivant. La méthode de Gram modifiée (fuchsine de Ziehl au lieu de violet de gentiane et solution bromo-bromurée au lieu de solution iodo-iodurée) semble être la méthode de coloration de choix.

Cultures. — Le ferment bulgare ne se cultive pas facilement, en dehors du lait, sans perdre ses propriétés biochimiques, mais il est inexact de prétendre, comme Orla-Jensen [145], qu'aucun milieu artificiel ne lui convient. Il se développe très rapidement en conservant toutes ses qualités, dans le milieu au touraillon de Bertrand et Duchacek qui est, après le lait, son milieu de choix.

GÉLATINE. — Contrairement à ce qu'avait avancé Cohendy [64], Becquet a démontré que le bacille bulgare était susceptible de pousser sur gélatine, même non sucrée, dans certaines conditions et toujours dans la partie aérobie du milieu qui lui est offert.

GÉLOSE PROFONDE. — Petites colonies d'un millimètre de diamètre, blanches, en lentilles épaisses et ombiliquées dans la zone anaérobie. Dans la zone aérée, petits flocons givrés assez denses très caractéristiques.

GÉLOSE EN PLAQUE. — Colonies givrées très petites, souvent ombiliquées.

BOUILLON PEPTONÉ LACTOSÉ ORDINAIRE. — Trouble homogène, très légèrement moiré après 18 à 20 heures à 37°. La réaction du milieu est acide; l'odeur, nulle au début, prend au bout de quelques jours, celle du lait aigri.

LAIT. — Pousse très bien sur le lait qu'il coagule en 15 heures environ à 37°; le caillot n'est pas redissout. Il faut avoir soin de faire des réensemencements très fréquents, tous les 2 jours environ, pour éviter que l'acidité produite ne vienne entraver ou même détruire la culture.

Il ne pousse pas dans le lait alcalinisé à 1 g. 5 de Na OH p. 100. Au 6^e jour, à 37°, il donne une culture abondante

dans le lait additionné de 6 g. d'acide lactique par litre ; une dose plus élevée, 8 g., empêche son développement.

SÉRUM DE LAIT. — Ce serait, d'après Cohendy [64], le milieu de choix. Culture abondante au 2^e jour. Après 48 heures d'étuve à 36°, les cultures se conservent vivantes pendant plus d'une semaine à la température du laboratoire.

SÉRUM DE LAIT PEPTONISÉ. — (à 1,5 p. 100 de peptone Chapoteaut ou de Witte). Longévité plus grande du bacille qui s'y retrouve très vivace 20 jours après 48 heures d'étuve.

Ce milieu peut servir à préparer un milieu solide par addition de 17 g. de gélose p. 100.

L'examen microscopique des cultures réalisées avec tous les milieux, montre que la longueur de la bactérie est plus petite, et son diamètre plus étroit, dans un milieu médiocre que dans un bon milieu ; la réduction de longueur peut atteindre la moitié. De plus, quand on traite les microbes par la méthode de Gram, ceux qui sont mal développés se comportent comme les vieux microbes ; ils se colorent mal ou ne se colorent pas.

Vitalité. — Le bacille bulgare n'est pas très résistant : la culture de ce microbe, dans le lait, à la température ordinaire, est stérile déjà au 19^e jour ; le laitensemencé avec une culture âgée de 17 jours se coagule, non dans 16 à 24 heures, mais seulement 6 jours après l'ensemencement. Si on le garde à froid (6 à 8°) il conserve sa vitalité plus longtemps, jusqu'à un mois [28].

On doit chercher la cause de cette courte vitalité non seulement dans les auto-toxines qui ont été étudiées par Conradi et Kuprjaweit, mais aussi, comme nous l'avons déjà vu, dans l'excès de l'acide lactique produit par le microbe et qui a une influence défavorable sur le microbe lactique lui-même. C'est pourquoi les processus qui neutralisent le milieu à mesure que le microbe se développe, (addition de craie au milieu) augmentent aussi, sa vitalité. C'est ainsi que Belonowsky [27] a pu constater que la présence de 0,8 p. 100 de craie prolonge de deux fois la vie du Bacille bulgare ; dans les cultures contenant 4 p. 100, et plus, de carbonate de calcium, il est resté vivant pendant toute la durée de ses observations, c'est-à-dire 4 mois.

Le Bacille bulgare résiste bien à l'action de l'alcool. Des cultures, additionnées de quelques centièmes d'alcool, se sont conservées pendant 18 mois sans formation de moisissures, dans des flacons munis simplement d'un bouchon de liège (Klebs).

Propriétés biochimiques. — Lorsque le bacille bulgare estensemencé à l'état pur dans du lait de vache, stérilisé, maintenu à l'étuve, il se développe très rapidement et fait disparaître, en quelques jours, la presque totalité du lactose.

Des divers microbes lactiques étudiés jusqu'ici, le bacille bulgare est certainement le plus actif. Tandis que la plupart des autres cessent d'agir lorsque l'acidité atteint une dizaine de grammes par litre, le bacille bulgare va beaucoup plus loin et poursuit son action jusqu'à 25 à 30 g. et même 32 g. 30 par litre (Cohendy [64]).

Le bacille bulgare solubilise une petite quantité de la caséine, environ le dixième, dont il utilise seulement une faible partie pour édifier ses cellules. Il ne saponifie les matières grasses que dans une proportion très minime.

Son action sur les amidons paraît négative.

Action sur les principaux sucres.

A. — SUCRES RÉDUCTEURS NON HYDROLYSABLES. — L'arabinose, le xylose et le sorbose sont infermentescibles, mais le glucose, le galactose, le mannose et le lévulose fermentent plus rapidement; le glucose et le galactose, c'est-à-dire les sucres qui dérivent de l'hydrolyse du lactose contenu dans le lait, étant ceux qui disparaissent le plus rapidement (en 4 jours).

B. — SUCRES HYDROLYSABLES. — Le lactose fermente rapidement et complètement, mais le maltose et le saccharose sont infermentescibles, ce qui prouve que le ferment bulgare ne sécrète ni maltase, ni sucrase, mais seulement de la lactase.

C. — SUCRES PUREMENT ALCOOLIQUES. — La mannite n'est pas fermentescible.

Les produits résultant de la fermentation par le *Bacille bulgare*, sont les mêmes avec toutes les espèces de sucres fermentescibles. On y trouve des produits volatils : acide acétique (environ 0g. 50 p. 1.000) et de très petites quantités d'acide formique ; et des produits fixes : acides lactiques droit et gauche, un peu d'acide succinique (0 g.50 environ.) Ces produits sont qualitativement semblables, qu'ils résultent de la fermentation du lait ou d'un milieu artificiel, avec cette petite différence que, dans ce dernier cas, le mélange des acides lactiques est rigoureusement racémique, alors qu'avec le lait il comporte un excès d'acide droit. Il est probable que le microbe produit dans le lait, et dans le milieu artificiel, tout d'abord de l'acide droit et de l'acide gauche en quantités rigoureusement égales, et cela quelque soit l'espèce de sucre fermentescible mis à sa disposition ; seulement dans le lait, pour des causes qu'il n'est pas encore possible de définir, une partie de l'acide lactique gauche serait utilisée de préférence à l'acide droit, de sorte, qu'au moment où l'on examine le mélange, on trouve un excès relatif de ce dernier.

En résumé le ferment bulgare se caractérise, au point de vue biochimique, par une grande puissance de fermentation, par la simplicité relative des transformations qu'il fait subir au lactose, par la prédominance surtout, parmi ces transformations, de celle qui correspond à la production des acides lactiques.

Pathogénicité. — Espèce inoffensive pour l'homme.

Inoculation au cobaye. — Ne donne lieu à aucun trouble de l'organisme.

III. — *Bacillus bifidus* Tissier.

En 1899, Tissier isola le *B. bifidus* en milieu anaérobie sucré, par la méthode de Liborius.

Il semble résulter des recherches de Lauter que la pénétration du *B. bifidus* de l'intestin des nourrissons se fasse par la bouche. Lauter n'a pas pu isoler des sécrétions vaginales, mais il a pu y constater à l'examen direct des formes rappelant ce germe ; la contamination se ferait pendant le passage par les voies génitales.

Habitant constant et prédominant de l'intestin de l'enfant nourri au sein et bien portant, le *B. bifidus* joue certainement un rôle important dans la lutte de l'organisme contre les microorganismes étrangers pathogènes. Les expériences de Kling ont d'ailleurs prouvé que les cultures de ce microbe exercent une action bactéricide énergique sur un certain nombre de microorganismes, tels que *B. coli*, *B. lactis aerogenes*, *Proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus*, et que, selon toute vraisemblance, ce sont les produits acides formés par l'action du *B. bifidus* sur le sucre, qui causent la disparition des bactéries.

Morphologie. — Bâtonnets polymorphes, isolés ou par deux, immobiles. Pas de spores. Si dans les selles, il a la forme d'un bacille, il donne en culture anaérobie des bacilles bifurqués en forme d'Y, d'où son nom.

Kendall et Haner distinguent 3 types morphologiques :

1) bacilles fins, souvent incurvés, à extrémité parfois renflée.

2) bacilles épais, bifides.

3) bacilles contenant une vacuole bordée par une bande de protoplasme gardant le Gram.

Ces différences correspondraient à des divergences dans l'activité saccharolytique de ces 3 types.

Coloration. — Reste coloré par la méthode de Gram d'une façon un peu irrégulière.

Cultures. — Anaérobie strict, il végète à 37°, lentement à 20°. (En symbiose, il pousse parfois, quoique faiblement, en milieux aérobie). Son pH optimum est compris entre 5,5 et 5,9.

GÉLOSE ORDINAIRE. — Pas de culture.

GÉLOSE GLUCOSÉE. — Après 3 jours, 2 sortes de colonies

1) Grosses, 2^{mm}, lenticulaires, à bords nets, prolongement blanchâtre sur une des faces.

2) Petites, ovoïdes,

BOUILLON. — Trouble en 3 jours ; masses floconneuses au fond.

LAIT. — Coagulation ; le coagulum ne se redissout pas.

Propriétés biochimiques. — Le bacille fait fermenter très activement les sucres (glucose, lactose, saccharose) en donnant de l'acide lactique inactif, et comme acide volatil, uniquement de l'acide tacétique. Son acidité d'arrêt, exprimée en SO_4H_2 , est de 4,90 dans les milieux glucosés ou lactosés, et de 3,43 dans les milieux saccharosés.

Il ne cultive abondamment chez l'homme, que dans un milieu intestinal riche en lactose.

Le pouvoir protéolytique du germe est pratiquement nul ; il n'attaque que les protéoses en donnant de l'ammoniaque sans production d'indol, d'hydrogène sulfuré, de phénol et d'acides gras. Il détruit complètement l'urée.

Pathogénéité. — Négative.

IV. — *Bacillus acidophilus* Moro.

C'est sous la direction d'Escherich, que Moro, en 1900, fit ses recherches sur un bacille qu'il avait trouvé dans les excréments de très jeunes enfants, nourris au sein, et isolé sur milieu acide ; le nom qu'il lui donna, *B. acidophilus*, se justifiait par la technique qui avait servi à le mettre en évidence. Il est voisin, sinon identique au *B. cretalis*, isolé par Gauducheau dans les saucissons, et se retrouve abondamment dans le jaune d'œuf coagulé malgré la présence de sel ou d'acide borique. En 1922, Jotten démontra qu'il était identique au bacille du vagin de Doderlein. Il a pu être isolé des sécrétions vaginales de femmes enceintes dans les 2/3 des cas examinés et, d'après Naujoks, l'ensemencement des voies digestives du nouveau-né se ferait par l'anús. Ce bacille et le *B. bifidus* se rencontrent souvent ensemble, ou alternativement, dans l'intestin des enfants nourris au sein.

Tissier affirmait qu'il n'avait jamais pu trouver le *B. acidophilus* chez un enfant nourri exclusivement au sein et bien portant. Pour Moro, Cahn et Jacobson, au contraire, la présence de *l'acidophilus* y est constante et même, quoique

en moins grande quantité que le *B. bifidus*, il y serait très abondant. Au sujet de cette divergence d'opinions, il y a lieu de faire remarquer que Tissier prétend que le *B. acidophilus* est facilement reconnaissable dans les selles, alors que pour Jacobson il est impossible, dans la majorité des cas, de distinguer sur les frottis de selles, l'*acidophilus* du *bifidus* ; et il en donne pour preuve le fait que, dans les cas examinés par lui, et où le *bifidus* paraissait, sur les lames, constituer la presque totalité de la flore, des cultures lui ont permis d'isoler, en dehors des espèces coliformes, toujours présentes, le *B. acidophilus* en abondance. Il faut, de plus, faire observer une particularité biologique de l'*Acidophilus*, susceptible d'en faire méconnaître la présence : les tentatives d'isolement de ce microbe, sur milieu *solide* acide, sucré ou non, ne permettent pas ou presque pas, d'obtenir de colonies d'*acidophilus*. Il a besoin de se multiplier d'abord en milieu liquide acide, après quoi on peut le transporter sur milieu solide.

Le *B. acidophilus* a été recherché dans le contenu intestinal de l'homme et d'un grand nombre de représentants de différentes espèces animales (mammifères, oiseaux, reptiles, poissons etc...) par Mereshkowsky et ses élèves, qui ont examiné 57 animaux appartenant à toutes les classes depuis l'homme jusqu'aux mollusques. Chez tous, sans exception, ils ont pu démontrer la présence des acidophiles. Des constatations identiques ont été faites par Obrastzow, puis par Pettrow.

Les bacilles acidophiles apparaissent dès l'âge le plus jeune, dès que l'intestin commence à se peupler de microbes et on les retrouve dans l'intestin pendant toute la vie de l'animal. Ils sont échelonnés tout le long du conduit gastro-intestinal, mais ils deviennent d'autant plus fréquents que l'on s'éloigne de l'estomac, et que l'on s'approche du rectum, où ils atteignent le maximum.

Comme Mereshkowsky, Vassiliadis a examiné les déjections d'un grand nombre d'espèces animales ; il y a également toujours rencontré le *B. acidophilus*, et il en a établi la proportion par rapport aux autres microbes :

Homme	5	p. 100	Cobaye (1)	28	p. 100
Mouton (1)	4	—	— (2)	59	—
— (2)	7	—	Rat blanc (1)	99	—
Lapin (1)	21	—	— (2)	70	—
— (2)	10	—	Cheval (1)	96	—
Souris (1)	23	—	Poule (1)	97	—
blanche (2)	15	—	— (2)	98	—

Comme on peut le constater, le *B. acidophilus* prédomine chez quelques animaux de façon évidente ; il en est notamment ainsi chez les Poules, le Cheval et les Rats. Peut-être faut-il attribuer cette prédominance à l'alimentation, étant donné que ces animaux vivent essentiellement de graines et que d'après Rettger, le régime de graines mélangées favorise le développement électif du *B. acidophilus*.

Morphologie. — Les descriptions de Moro et de Tissier diffèrent sensiblement quant à la forme du *B. acidophilus*. Tandis que Moro le décrit comme un bacille mince à extrémités légèrement pointues, souvent rangé en éléments parallèles, il se présente pour Tissier sous forme d'un gros bacille trapu à extrémités arrondies.

Il est d'ailleurs fort probable, ainsi que l'a écrit Moro, que les selles normales contiennent non *un* acidophile mais *plusieurs variétés* d'acidophiles assez variables morphologiquement. C'est ainsi que Cahn a décrit 3 variétés de colonies d'acidophiles et Weiss, se livrant à une étude particulière des acidophiles recueillis sur des cadavres et en divers points du trajet intestinal, a pu isoler 7 espèces acidophiles dont 4 bacilles et 3 cocci. Ces 7 variétés qu'il décrit, prennent toutes le Gram, aucune n'est pathogène, aucune ne donne de spores, quelques unes, enfin, sont très acidophiles puisqu'elles poussent dans un bouillon acide à 5 p. 100 d'acide acétique.

Enfin Jacobson [141] a eu entre les mains 3 échantillons d'acidophiles, assez variables morphologiquement, et très analogues au point de vue cultural ; à savoir :

1°) Un bacille gros, court, trapu, à bouts carrés, habituellement disposé en assez longues chaînes.

2°) Un bacille mince à extrémités arrondies, non groupé en chaînes, mais disposé en séries de plusieurs éléments parallèles ; rarement on voit 2 ou 3 bacilles bout à bout.

3°) Un bacille très court qui est, à la variété de Moro, ce que le diphtérique court est au diphtérique commun.

Ces 3 formes ont persisté, non modifiées, dans les divers repiquages faits par l'auteur, mais les caractères cultureux étaient identiques dans les 3 variétés et répondaient très exactement à la description de Moro.

Dans les cultures, et suivant les milieux employés, on observe de grosses variations de formes : formes courtes, longues, filaments, formes en massue.

Coloration. — Reste coloré par la méthode de Gram, mais d'après Moro, il perdrait cette faculté, dans les milieux liquides, en 2 à 6 jours. Ce caractère est très variable. Parfois, la perte de la colorabilité par le Gram est à peu près nulle, même dans des cultures vieilles de 15 jours et plus ; mais dans la majorité des cas, on observe une perte plus ou moins rapide de la colorabilité par le Gram, plus accentuée en milieux liquides, mais se montrant aussi en milieux solides.

Sans doute il s'agit là d'un phénomène banal, et commun à beaucoup d'espèces microbiennes, de vitalité moindre de certains éléments, mais qui paraît ici plus accusée qu'ailleurs ; déjà au bout de 24 heures de culture, on trouve souvent un grand nombre d'éléments décolorés, au point que, si on n'est pas prévenu, on peut croire qu'on a affaire à un mélange de deux espèces bacillaires.

Cultures. — Les cultures sont lentes, à peine perceptibles au bout de 24 heures.

Sur agar lactosé il donne de petites colonies blanc-grisâtres à bords sinueux.

Il arrive à pousser à l'air sur gélose glucosée et sur gélatine sucrée à 20°, soit en surface, soit en profondeur.

D'après Salge, les milieux contenant des substances grasses (oléate de soude) favorisent son développement.

Propriétés biochimiques. — Le *B. acidophilus*, comme le *B. bifidus*, n'utilise du contenu intestinal que les hydrates de carbone sans attaquer les protéines. Il fait fermenter le glucose, le galactose et le lactose comme le *B. Bulgare* et de plus

le lévulose, le saccharose et le maltose, mais l'acidité produite est plus faible : 7 à 8 p. 1.000 d'acide titrable dans le lait en 24 heures. Elle reste toujours inférieure à 10 p. 1.000, même après une longue conservation. Le lait ne commence à aigrir qu'au bout de 30 à 35 heures.

Son acidité d'arrêt, exprimée en $\text{SO}_4 \text{H}_2$, est de 3,43.

Il n'attaque que les protéoses en donnant de l'ammoniaque, mais ni indol, ni phénol. Il attaque l'urée.

Pathogénicité. — Escherich et Finkelstein [90] attribuent à certaines variétés d'acidophiles un rôle pathogène dans certaines entérites ; Cahn prétend avoir trouvé l'acidophile dans les organes et même le cœur d'enfants ayant succombé à des gastro-entérites ; Salge, enfin, a attribué à l'Acidophile la responsabilité de certaines gastro-entérites, où prédominaient les symptômes d'ordre toxique, mais toutes les tentatives qu'il a faites pour démontrer l'action pathogène du microbe sont restées sans résultat, et il n'a pu trouver que des différences tout à fait insignifiantes avec l'Acidophile habituel, qui doit être considéré comme *non pathogène*.

V. *Streptococcus acidilactici* Grotenfelt.

Le *Str. acidilactici* est l'agent le plus fréquent de la fermentation lactique. Avec le *B. lacticus*, c'est lui que l'on rencontre le plus souvent dans le lait à l'état naturel.

Morphologie. — Courts bâtonnets, présentant l'aspect de gros cocci ovalaires, effilés en pointe ou arrondis aux pôles, de 1μ de long sur $0,5$ à $0 \mu 6$ d'épaisseur, groupés par deux ou en petites chaînettes - Immobiles.

Coloration. — Prend le Gram.

Cultures. — Aérobie facultatif.

GÉLATINE. — *En plaques* : colonies punctiformes, très délicates ; pas de liquéfaction. - *En piqûres* : colonies seulement dans la profondeur.

GÉLOSE SUCRÉE. — Colonies entourées d'un trouble.

POMME DE TERRE. — Culture maigre.

BOUILLON ORDINAIRE. — Trouble léger.

BOUILLON SUCRÉ. — Trouble manifeste ; pas de pellicule.

LAIT. — Rapide production d'acide et formation d'un coagulum solide en 24 heures à la température de 30° ; pas de gaz.

Propriétés biochimiques. — Il fait fermenter le lactose, le maltose, la dextrine et non le saccharose. Il attaque la caséine à la température habituelle de maturation des fromages.

CHAPITRE III

Les laits fermentés

« L'homme, à toutes les époques, sous tous les climats, dit M. Duclaux, a recherché avec avidité les boissons fermentées, et a honoré comme des dieux ceux qui lui ont appris à les connaître et à les préparer ». C'est ainsi que l'usage des liquides fermentés à base de lait remonte à la plus haute antiquité, et on peut dire que ces boissons sont nées au milieu des peuples nomades qui habitent l'Asie centrale. Dans les Balkans, ainsi qu'au Levant et en Egypte, le lait fermenté est très apprécié de la population. Sous des noms divers il entre dans l'alimentation, non seulement comme condiment, et entremets, mais comme élément essentiel. Les laits de vache, brebis, chèvre, bufflesse, et parfois aussi de chamelle, servent à sa préparation.

On distingue deux grandes sortes de laits caillés :

Les laits caillés occidentaux, d'acidité variable, peu recommandables.

Les laits caillés orientaux, résultant de fermentations bien déterminées, et dont les plus connus sont :

LE KÉPHIR (Caucase).

LE KOUMYS (Sibérie, Asie centrale).

LE YOGHOURT (Bulgarie).

LE LEBEN (Egypte).

LE GIODDU (Sardaigne).

LE MAZUN (Arménie).
 LE DADHI (Inde).
 L'HUSLANKA (Carpathes).

Lait caillé ordinaire

Le « Caillé » est obtenu en laissant du lait abandonné quelque temps à lui-même. Sous l'influence des ferments lactiques qui le contaminent, le lait coagule, et prend la forme d'une masse blanche comme la crème.

D'après Péhu, le caillé aurait la composition suivante :

Eau	90 g.	20	p. 100
Graisse	4	-	—
Caséine insoluble	2	-	25 —
« soluble	1	-	25 —
Lactose	3	-	60 —
Acide lactique	1	-	40 —

C'est donc un produit très acide et contenant toute la graisse du lait. Son acidité exige qu'on l'administre additionné d'au moins 10 p. 100 de sucre. Par suite de la solubilisation partielle de sa caséine, le lait caillé est de digestion plus facile que le lait. Il est même considéré comme plus léger que le Yoghourt, auquel il est inférieur au point de vue saveur. Il possède une action légèrement purgative.

Laits caillés orientaux

KÉPHIR

Le Képhir, ou Kéfir, est une boisson fermentée, à la fois alcoolique, acide et gazeuse, préparée, depuis un temps immémorial par les Tartares qui habitent la région du Caucase, et dont l'usage a, depuis longtemps déjà, pris un tel développement en Europe occidentale, qu'on le trouve dans presque tous les établissements et sanatoria où la question d'une alimentation régulière et active joue un rôle important. On l'utilise surtout pour faire de la suralimentation.

Les premiers essais thérapeutiques du Képhir furent tentés, en France, par les Pr^s Dujardin - Beaumetz et Hayem, qui mirent en évidence ses propriétés diététiques et médicamenteuses, liées à sa constitution chimique. Depuis, la consommation de ce produit a grandi de jour en jour, mais c'est surtout depuis les communications de Metchnikoff sur la Bactériothérapie lactique qu'il est prescrit par le Coaps Médical.

Le secret de la préparation du Képhir fut gardé pendant longtemps, et ce n'est guère qu'en 1866, que la Société médicale du Caucase l'a fait connaître, en même temps qu'elle propagea les propriétés bienfaisantes de ce produit.

Modes empiriques de préparation [297].

Dans des outres de cuir, les indigènes mettent du lait de vache, de chèvre, de brebis ou de jument, suivant les pays. Ils y ajoutent un fragment d'estomac de mouton ou de veau et ils agitent de temps à autre. Le lait se caille et s'aigrit ; on le consomme et on le remplace par du lait nouveau qui subit les mêmes modifications à son tour. Peu à peu, il se forme sur la paroi interne de l'outre une croûte qui va s'épaississant ; celle-ci est constituée en grande partie par une agglomération de microorganismes vivants et pullulants, organisés, comme l'a montré l'examen microscopique, en une sorte de tissu curieusement feutré.

Un autre procédé consiste à employer comme ferment, ce que les Tartares appellent les « grains de Kéfir » ou « millet du Prophète », la légende racontant que c'est Mahomet qui donna les premiers grains à ses adeptes ; ces grains devaient d'ailleurs perdre leurs propriétés si le secret de la préparation était livré aux étrangers. Ce sont des débris, assez semblables à des parcelles de choux-fleurs, obtenus par morcellement, suivi de dessiccation, d'un fragment de la croûte végétante dont nous venons de parler.

Les *grains de Kéfir*, appelés également semence, ou champignon de Kéfir, à l'état sec, sont des corpuscules irréguliers, de consistance demi-dure, dont la taille varie de la grosseur d'une tête d'épiingle à celle d'une noisette ; de couleur jaunâtre, ils exhalent une odeur rance. Ils se gonflent dans l'eau à laquelle ils communiquent un peu de leur couleur. Dans le lait, ils reprennent vie et produisent à la température de 18 à 22°, une fermentation qui consiste en :

1°) Une fermentation lactique d'une certaine quantité de lactose.

2°) Une fermentation alcoolique d'une autre proportion de lactose.

3°) Enfin, une caséification partielle du lait avec peptonisation partielle de la caséine.

Cette fermentation se traduit par une coagulation, et par un dégagement de bulles gazeuses faisant remonter à la surface les grains qu'elles allègent.

Préparation officinale [246].

C'est toujours avec des grains provenant de leur contrée d'origine, que l'on fait agir directement sur du lait frais, que l'on prépare le Kéfir.

a) GONFLEMENT DES GRAINS. — Placer dans un bocal en verre jaune, 1 volume de grains de Kéfir pour 2 volumes de lait bouilli et refroidi à la température ordinaire ; laisser macérer pendant 24 heures entre 16 et 20°, puis décantier sur une passoire pour séparer les grains que l'on lave à l'eau bouillie et refroidie. Ils sont alors blancs, turgescents et élastiques et prennent l'apparence décrite ci-dessus ; rejeter le lait.

b) PRÉPARATION DU LEVAIN. — Introduire les grains ainsi préparés dans un flacon à large goulot en verre jaune avec du lait bouilli et débarrassé de sa pellicule, dans la proportion de 1 volume de grains préparés pour 6 volumes de lait bouilli. Obturer le flacon avec un tampon de coton et laisser macérer pendant 24 heures en agitant de temps en temps. Passer à travers une passoire pour séparer le lait des grains, qui seront ensuite lavés, séchés et mis de côté pour des préparations ultérieures ; le lait ayant passé, constitue le levain.

c) FERMENTATION DU LAIT. — Mélanger 1 partie de levain et 2 parties de lait bouilli ; distribuer dans des fioles de 250 g. que l'on remplit jusqu'à la naissance du goulot ; fermer hermétiquement les fioles avec des bouchons de liège ; ficeler solidement ; laisser fermenter à une température de 20° en agitant de temps en temps.

Le Képhir que l'on obtient ainsi peut servir à ensementer de nouvelles quantités de lait, mais après 6 ou 7 ensemencements, il faut revenir au *modus operandi* initial en préparant un nouveau levain.

Caractères. — Le bon Képhir est un liquide opalescent, mousseux, épais, un peu filant, de saveur aigrelette et d'odeur *sui generis*. Il ne laisse percevoir aucun grumeau de caséine à la dégustation.

Composition. — La composition du Képhir diffère suivant la préparation. Le Képhir faible (n° 1), c'est-à-dire celui obtenu après 24 heures de fermentation, renferme, outre les éléments du lait, de l'acide lactique et environ 1 p. 100 d'alcool ; de plus, la caséine partiellement coagulée a subi un commencement de peptonisation. Le Képhir moyen, ou Képhir n° 2 (48 heures de fermentation), le plus généralement employé, et le Képhir fort (n° 3), après 3 jours de fermentation, ne diffèrent du précédent que par la proportion d'alcool et d'acide lactique.

La fermentation se prolongeant, des ferments butyriques entreraient en jeu produisant de l'acide butyrique.

Examen microscopique

Le Képhir a été l'objet de nombreux travaux bactériologiques. Après Hammarsten, qui y signala, vers 1880, la présence d'alcool et des acides lactique et carbonique, Kern, le premier, fit l'examen microscopique des grains ; il y trouva des microbes variés dont deux surtout attirèrent son attention : une levure et un bacille [162]. Puis vinrent les études de Beyerinck (1889), Nicolai et Essaouloff (1895), Freudenreich (1897) qui distingua et étudia 4 espèces de germes : une levure, 2 streptocoques a et b et un bacille, Jorgensen (1898), Adametz, Van O'Tunmann (1910) etc...

Si l'opinion de ces auteurs diffère sur la nature des grains, ainsi que sur les relations qui peuvent exister entre les fermentations et les germes qui servent à les produire, tous sont d'accord cependant pour ranger sous 3 catégories principales, les espèces qui contribuent à déterminer par leur association l'ensemble des qualités chimiques, physiques, biologiques et diététiques qui caractérisent le meilleur Képhir, à savoir : des formes levures, des formes coccus, et des formes bacilles.

1°) LA LEVURE a été trouvée et décrite sous le nom de *Saccharomyces Kephiri* par Freudenreich. Mais les méthodes de sporulation (Holm-Poulsen et Gioradkawa) ne permettent pas d'obtenir d'ascospores ; aussi le terme de *Saccharomyces* semble impropre à Sartory qui propose de désigner la levure sous le nom de *Cryptococcus Kephiri*.

Cette levure pousse sur les bouillons de culture habituels mais se plaît beaucoup mieux sur les milieux sucrés, où elle est capable de donner une fermentation alcoolique du glucose, du galactose et du saccharose.

2°) LE MICROCOCCUS est un très petit coccobacille en diplocoques ou en chapelet qui forme en vieillissant des groupements ou zoogléés. Il donne dans les milieux sucrés de gros flocons formant une masse visqueuse.

3°) LE BACILLE, *Bacillus caucasicus* Freudenreich, très court quand il est jeune, s'allonge en vieillissant, et présente parfois à ses extrémités des renflements qui ont été pris pour

des spores par certains auteurs, ce qui avait valu à cette bactérie le nom de *Dispora caucasica* (Kern) ; mais ces corpuscules se comportant comme le reste du bacille vis-à-vis de la chaleur et des antiseptiques, ne peuvent être considérés comme des spores.

Ce bacille serait animé de mouvements vifs de translation, qu'il perdrait dans le grain de Képhir. Ses milieux de prédilection sont le lait avec craie et le bouillon avec craie sur lesquels il donne des colonies profondes, d'aspect laineux. Il pousse assez mal sur sérum peptonisé, gelatinisé.

Tous ces germes peuvent vivre soit en aérobie, soit en anaérobie, mais les deux derniers, dans le lait, semblent mieux cultiver à l'abri de l'air.

Ils se colorent facilement par les couleurs d'aniline et prennent le Gram. Ils ne sont pas pathogènes et ne donnent pas la réaction de l'indol.

Depuis les travaux de Jandin et les expériences de Sartory, on doit admettre aujourd'hui que la fermentation alcoolique du Képhir est due à la symbiose du bacille et de la levure ; le bacille intervertit le sucre de lait et la levure attaque les sucres formés : glucose et galactose, donnant ainsi de l'alcool et du CO^2 qui gazéifie le liquide. De plus le *Bacillus causicus* se conduit comme un ferment lactique très actif vis-à-vis des principaux sucres (surtout en présence de $\text{CO}^3 \text{Ca}$) ; c'est donc lui qui, dans la transformation des éléments du lait, joue le rôle le plus important.

Quant au micrococcus, il intervient comme ferment lactique faible et surtout comme ferment visqueux du lactose, il forme, pour ainsi dire, le grain ou tout au moins la matière agglutinante. Lorsqu'on examine, en milieu lactosé et surtout saccharosé, une culture de ce microbe en milieu anaérobie, on se rend compte que, dans les zoogléas, les flocons de sa culture englobent tous les germes qui peuvent vivre dans ce milieu avec lui. Il crée, en un mot, le grain qui est retenu ensuite dans la filtration grossière de la culture. L'état de viscosité qu'il produit par son action sur le sucre, donne, de plus, au coagulum de caséine formé par lui ou par le bacille, « l'aspect ténu et gluant que l'on voit dans le Képhir. »

Il semble bien que bon nombre d'espèces, différentes de celles que nous venons de citer et que l'on rencontre soit à la surface, soit dans la profondeur des grains du Képhir, doivent être regardées comme étrangères à la fermentations kéfirique. Telles sont : le streptocoque lactique glaireux de Violle, une torula rose, des sarcines jaunes, différentes espèces d'oïdiums. un *mycoderma aceti* qui donne très communément au képhir une acidité acétique anormale, souvent préjudiciable aux malades, des champignons tels que *Aspergillus*, *Penicillium*, des microbes sporulés tels que *B. butyricus*.

Enfin, aux parasites provenant des grains, il peut s'en ajouter d'autres provenant du lait quand celui-ci n'est pas convenablement stérilisé avant son ensemencement. (1)

On peut avoir du Képhir maigre, demi-gras ou gras suivant la nature du lait employé ; mais pour les personnes affaiblies, le lait maigre, ou au moins partiellement écrémé est préférable, car la matière grasse est d'une digestion difficile. D'après les expériences de Gilbert et Chassevant, le Képhir écrémé est digéré après un séjour de 2 h. 1/2 à 3 heures dans l'estomac, le Képhir ordinaire après 4 h. 1/2 tandis que le lait pur cru n'est digéré qu'après 7 h. 1/2, le lait bouilli et le lait écrémé après 5 heures.

Le Képhir ne peut être absorbé en grande quantité, car il provoque très rapidement une sensation de plénitude.

On aromatise quelquefois le produit avec de la vanille, de l'essence de citron, un sirop de fruits, de l'eau de seltz, etc...

(1) Il ne faut pas oublier, en effet, que les laits fermentés peuvent contenir des organismes dangereux provenant du lait ou des récipients dans lesquels ils sont préparés et qui sont emportés à domicile par le consommateur. Ni le Bacille de Koch, ni même des germes plus fragiles (*B. typhique* et paratyphiques, *Micrococcus melitensis* [71]) ne sont détruits rapidement dans le lait caillé.

Le *B. typhique* est encore vivant après plusieurs jours dans le lait aigre acidité 33° Soxhlet-Henkel), après un à trois jours dans le Képhir (acidité 33 - 38° S. H.), et même après 24 heures dans le Yoghourt (acidité 48° S. H.) Le Paratyphique *B.* est encore plus résistant.

Par mesure de précaution, et contrairement à certaines affirmations, les laits caillés ne devraient jamais être préparés sans que le lait ait été préalablement et soigneusement bouilli ou pasteurisé. De plus le lavage des récipients doit se faire avec grand soin et il serait nécessaire d'instituer un contrôle bactériologique strict qui permette de déceler rapidement les signes d'un dérangement dans la marche de la fabrication.

Le Képhir s'administre également associé à certains médicaments. C'est ainsi que l'on prépare du Képhir ferrugineux avec du lactate ferrique, pepsiné avec de la pepsine en poudre, arsenical, ioduré, au créosotal, etc...

D'après Schreiber, le Képhir constitue pour le nourrisson un aliment de régime exceptionnel. Si dans la plupart des cas il n'est pas recommandable au cours du premier âge, on est par la suite autorisé à le donner, quand les résultats fournis par les autres aliments du premier âge n'auront pas été satisfaisants. Il paraît pouvoir être particulièrement prescrit dans les cas de vomissements tenaces, de diarrhées rebelles. Il y aura souvent intérêt à prescrire du Képhir maigre plutôt que du Képhir entier.

Le Docteur Svehla a acquis des résultats très favorables dans les cas de gastro-entérites, non seulement chez les nourrissons, mais aussi chez les enfants plus âgés et les personnes adultes. Les expériences sur les pigeons nourris au riz décortiqué, ont démontré que le Képhir a reculé pendant presque 14 jours l'apparition des symptômes d'avitaminose.

KOUMYS

Le Koumys est une boisson fermentée obtenue à l'aide du lait de jument et qui était autrefois exclusivement préparée dans les steppes de la Sibérie et de l'Asie centrale, où elle servait de nourriture aux Mongols. M. de Lesseps, parlant des Yacoukes du Kamtchatka le mentionne dans son journal (1798) :

« Dans un coin de la Yourta est à demeure un baquet de cuir. Chaque jour on-y verse du lait de jument qu'on agite avec un bâton pareil à celui qui sert à battre le beurre. Tous ceux qui entrent, les femmes surtout, ne manquent jamais avant de vaquer à d'autres travaux, de battre ce lait pendant quelques instants ; de là provient cette boisson agréable qu'on nomme le « Koumouiss ». Veut-on le faire davantage fermenter, elle devient un breuvage des plus capiteux ».

Le Koumys, comme le Képhir, a été recommandé pour faire de la suralimentation, et les médecins russes le préconisaient volontiers avant la guerre pour les tuberculeux qui se rendaient par milliers dans les steppes pour faire, sur place, une cure pendant laquelle ils absorbaient par jour de 3 à 5 litres de cette boisson.

Contrairement au Képhir, le Koumys n'est pour ainsi dire pas employé en Europe occidentale, sa préparation étant plus délicate, et difficile à contrôler.

Préparation [101]. — Le Koumys naturel s'obtient en partant du « Katyk » sorte de levain constitué par du lait de vache caillé que l'on a fait fermenter plusieurs jours dans du lait frais. On délaie le Katyk dans du lait de jument en y ajoutant tous les jours du lait frais. Le mélange étant rendu bien homogène par l'agitation, on le conserve à une température de 25° environ jusqu'à ce que, vers le 4^e ou 5^e jour, il commence à se produire un dégagement gazeux. Le levain ainsi obtenu est ensuite mélangé à du lait dans une proportion déterminée, puis on laisse fermenter pendant 3 heures à 22-25° ; le mélange mis en bouteille est ensuite maintenu pendant 3 heures à 15-18°, puis refroidi à 6-7°. On obtient alors au bout de 3 heures environ, ce que l'on appelle du « Koumys faible », puis après 12 à 18 heures, du « Koumys moyen », et enfin au bout de 35 à 40 heures du « Koumys fort ».

Examen bactériologique

D'après Rubinski, 4 espèces de microorganismes s'observent presque constamment dans le Koumys. Ce sont : 1°) la levure du Koumys. 2°) la bactérie du Koumys. 3°) le *Streptococcus lactis*. 4°) le *B. acidi lactici* Hueppe. Accessoirement on peut rencontrer, en outre, le *Bact. Caucasicum* Nicolajewa.

LA LEVURE DU KOUMYS est une levure basse appartenant à la classe des *Saccharomyces* ou plutôt des *Torula* ; ses cellules sont allongées. Elle croît activement sur le lait et provoque une fermentation énergique du lactose ; elle produit aussi de l'acide lactique jusqu'à 0,36 p. 100. Elle digère la caséine qu'elle transforme en albumine et peptone et produit des matières aromatiques qui donnent au Koumys son arôme.

LA BACTÉRIE DU KOUMYS s'apparente étroitement aux lactobacilles et au *B. acidophilus*. Elle offre un polymorphisme très accentué et se présente tantôt sous forme de longs bâtonnets, formant des chaînes comme les *Leptothrix*, tantôt sous forme de courtes cellules ressemblant à des *Streptococcus*. Elle est immobile et ne produit pas de spores. On lui a attribué le pouvoir de provoquer la fermentation butyrique (Grigorieff), de peptoniser les albumines (Stange, Chipine), et enfin de provoquer la fermentation lactique (Chipine, Goluboff). La production d'acide lactique est de 1,1 p. 100 au maximum ; le lait est coagulé au bout de 2 à 5 jours.

Seules ces 2 espèces (levure et bactérie du Koumys) sont indispensables pour la préparation du Koumys. Le *B. acidi lactici* et le *Str. lactis* ne sont pas nécessaires, mais utiles ; ils produisent des acides qui aident la bactérie dans sa lutte contre les microorganismes nuisibles. Ils ont une action favorisante sur la bactérie et la levure.

Enfin, des cultures ont démontré la présence de l'*Oidium lactis* (Stange), de *Sarcina alba*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium butyricum*, et d'autres espèces encore, provenant tous de l'extérieur et n'intervenant pas dans la formation du Koumys.

Le Koumys n'est donc que du lait de jument soumis à deux processus réalisant un équilibre : la fermentation lactique et la fermentation alcoolique, la peptonisation des albumioides se faisant par voie chimique au contact des acides lactique et carbonique. La quantité d'acide lactique contenue

dans le Koumys est très grande au début : 1, 80 p. 100 au bout de 3 heures ; mais elle diminue bientôt à mesure qu'augmente la fermentation alcoolique, pour être de 0, 8 à 0, 9 p. 100 au moment où le Koumys est propre à la consommation.

Rubinski a remarqué, qu'avec des cultures pures de la levure et de la bactérie du Koumys, seul le lait de jument donne un Koumys normal. Cette particularité paraît s'expliquer par ce fait, que le lait de jument renferme des substances albuminoïdes beaucoup plus attaquables que les autres laits.

Le Koumys jouit à peu près des mêmes propriétés que le Képhir ; c'est une boisson gazeuse, à peine plus épaisse que que le lait. Il se prend facilement par verre, et laisse dans la bouche une agréable sensation de fraîcheur. Puis en petite quantité, il semble doué de propriétés apéritives. A dose plus forte, il se montre très nourrissant.

Composition. — Le Koumys contient du gaz carbonique libre ou combiné, de l'alcool, de l'acide lactique, de la matière grasse et de la matière albuminoïde.

En résumé le Koumys et le Képhir sont des produits dérivés du lait, modifié sous l'influence de processus parallèles provoqués par des agents biologiques : la fermentation alcoolique et la fermentation lactique. Pour les produire, il suffit d'ensemencer le lait par les agents de l'un et l'autre processus : levure et bactérie lactique.

Si nous comparons la composition du Koumys et celle du Képhir, nous constatons que dans ce dernier les fermentations sont moins intenses ; le sucre est fermenté à moitié seulement, et la fermentation alcoolique, au lieu de fournir de 2 à 3 p. 100 d'alcool, comme dans le Koumys, n'en donne que 1 p. 100 environ. Les substances albuminoïdes sont soumises à une hydrolyse plus faible, tout en subissant les mêmes transformations que dans le Koumys.

La cure de Koumys se distingue essentiellement de la cure de Képhir tant par son caractère que par ses effets. Le Képhir, boisson très épaisse comparable à du lait caillé émulsionné, ne peut être pris qu'en petites quantités pour faire de la suralimentation. Le Koumys, au contraire, bu par quantités de 3 à 5 litres par jour, provoque une sorte de lavage général de l'organisme par un liquide très nutritif.

YOGHOURT

Yogourt, Yoghourt, Yaogourt, Yo-ourt ou Yaourth viennent probablement du turc *yogourtmak*, fermenter. Plusieurs auteurs grecs et romains citent dans leurs œuvres, le Yoghourt sous le nom de « lait aigri », et traitent longuement de son emploi et de ses propriétés. Ainsi Plutarque au chapitre C sur Ataxerxès, dit : « Boire un verre de lait aigri », tandis que le médecin principal d'Ataxerxès, Ktissias Knidios raconte « qu'on boit du lait et du lait aigri de mouton ». Le célèbre médecin Galinos de Pergame, le médecin Orivassis (qui vivait au temps de Julien) et plusieurs autres citent longuement son emploi.

Dans son pays d'origine, la Turquie, il est employé comme aliment, soit pur, soit ajouté à des repas différents, soit sous forme d'*aïran* ou yoghurt dilué d'eau, que l'on prend beaucoup en été comme rafraîchissant ; il entre aussi dans la composition du *Tarhava*, nom sous lequel on désigne des préparations farineuses pour les potages. On retire aussi le beurre du lait en transformant d'abord ce dernier en Yoghourt.

En Turquie, il y a une forte consommation de Yoghourt, surtout en province ; presque toutes les maisons le préparent avec le lait de leurs propres animaux. Mais son emploi ainsi que sa consommation ont grandement augmenté et se sont beaucoup étendus en Europe depuis que Metchnikoff a préconisé le Yoghourt, comme « élixir de longue vie ». Pour lui, « le Yoghourt n'est pas seulement un aliment sain, mais il est aussi un antidote contre la vieillesse prématurée, donnant aussi une énergie excellente au tube digestif. » Sa préparation se développe de plus en plus en France et principalement à Paris où il figure maintenant sur presque tous les menus des Restaurants.

Préparation [258-317]. — Le lait de brebis serait celui qui conviendrait le mieux à l'obtention du Yoghourt. A défaut on a surtout recours au lait de vache. Les laits de bufflesse et de chèvre peuvent également être utilisés. On les ensemenche à l'aide d'un ferment spécial appelé « maya » (mère) ou d'un levain provenant d'une opération antérieure.

Dans le pays d'origine, on chauffe le lait jusqu'à réduction aux $\frac{2}{3}$ et même à la moitié de son volume primitif, tout en le remuant avec une grande cuiller, et on le distribue ensuite, bouillant, dans des tasses déposées dans une caisse remplie de paille à moitié. On laisse refroidir à la température de 40-42°, et on ajoute alors du Yoghourt datant de 1 à 2 jours que l'on dilue avec partie égale de lait bouilli et refroidi, ou d'eau. Cet ensemencement se fait à l'aide d'une petite cuiller à long manche ou de préférence avec une seringue, en ayant soin de ne pas déchirer la couche de crème du lait, et à raison de 1,5 à 2 cuillerées à soupe par litre.

Faute de posséder une étuve réglée à 37-40°, on recouvre les tasses de deux couvertures, l'une fine et l'autre épaisse. En été, la température ordinaire est suffisante; mais en hiver, il faut chauffer la pièce où l'on prépare le Yoghourt, ou bien mettre dans le coin de la caisse un peu de charbon de bois brûlé ou des briques chaudes.

Les Yoghourts de Silivri étant préparés dans des larges cuvettes en fer blanc, celles-ci sont posées sur des fourneaux spéciaux.

Trois heures après l'ensemencement, si le Yoghourt commence à se former, on peut enlever la couverture épaisse et laisser la fine. Si on laisse toujours la couverture épaisse, le Yoghourt abandonne un peu de liquide. Ainsi au bout de 6 à 8 heures le lait se coagule et devient du Yoghourt.

Le Yoghourt ainsi préparé est ce qu'on appelle le *Yoghourt de bol*, ou de *jatte*; il contient tous les éléments du lait. Mais souvent on prépare du Yoghourt dans des grands récipients, surtout quand il s'agit de le transporter, et dans ce cas, afin d'éviter les risques d'altération, on le met dans des sacs en étoffe fine, ce qui élimine les parties liquides. On obtient ainsi un Yoghourt qui diffère du précédent par le goût et la constitution, surtout quand, de plus, il est préparé avec un lait écrémé (*Yoghourt de sac*).

L'acidité d'un Yoghourt frais est neutralisée avec 160 cc. de Soude Normale par litre, ce qui correspond à 14 g. 4 d'acide lactique.

Examen microscopique

Le premier travail purement scientifique sur le Yoghourt a été effectué à Genève, dans le laboratoire de Massol, par Grigoroff qui a isolé pour la première fois l'agent causal de la fermentation du lait, le *Bacillus bulgaricus* (1905).

En 1908, Luerssen et Kuhn y ont trouvé, outre le Bacille bulgare, un bacille granuleux (*Koernchenbacillus*) et un diplostreptocoque.

Le bacille bulgare et le bacille granuleux ont été considérés par beaucoup d'observateurs comme absolument identiques. En réalité, ces deux microbes possèdent des caractères morphologiques bien différents.

En dehors des bacilles, on trouve toujours dans le Yoghourt, des diplocoques et des levures.

I. — Bacilles. — Refik Bey décrit 3 sortes de bacilles :

A.) LE BACILLE TURC, correspondant au *Bacterium granulorum*, type *Koernchenbacillus* de Luerssen et Kuhn, se présente sous l'aspect de bâtonnets à bouts arrondis plus ou moins courbes, mesurant en moyenne 10μ sur $0\mu 7$, isolés ou réunis sous forme de streptobacilles ou de filaments flexueux (50μ et plus).

Il est immobile et n'a ni spores, ni cils.

Il se colore par les couleurs basiques ; il prend le Gram et résiste bien à la décoloration.

Sur toute son étendue, se voient des granulations (métachromatiques, rondes ou ovales, souvent un peu plus larges que le bacille lui-même. Par l'action d'une vieille solution hydro-alcoolique phéniquée de bleu de méthylène (transformé en partie en azur et violet de méthylène, colorants métachromatiques), les bacilles se colorent en bleu et les granulations en rouge. Le bleu de méthylène non transformé colore ces granulations en bleu foncé. Il résulte des expériences de Pergher que ces granulations endobactériennes se présentent sous des formes diverses suivant les souches, et qu'elles sont, sans aucun doute, en relation avec l'activité biochimique du germe.

C'est un microbe surtout anaérobie qui pousse bien sur le lait en le coagulant, et sur certains milieux artificiels : Bouillon acide lactosé, Gélose-lait, Gélose acide lactosée, Gélose au petit lait nutrosé.

Il est tué par chauffage d'un quart d'heure à 60° .

B.) LE BACILLE HOMOGÈNE correspond au *Bacillus bulgaricus* et au *Plocamobacterium bulgaricum* des expériences de Cohendy (1906). Ses éléments réguliers, à bords parallèles et coupés

carrément, mesurent $8\ \mu$ de long sur $0\ \mu\ 8$ de large. Ils sont réunis en courtes chaînes de 3 à 4 streptobacilles.

Il est immobile et n'a ni spores, ni cils, ni granulations. Il est de structure homogène, mais parfois on peut voir des vacuoles.

Il se colore par les couleurs basiques ; il prend le Gram et résiste longtemps à la décoloration.

Il est plus aérobie que le *bacille turc*. Il se développe facilement, dans le lait qu'il coagule, et dans les mêmes milieux spéciaux que le *bacille turc*, en donnant des colonies plus grandes que ce dernier. Sa température optima est de $37-40^{\circ}$.

Il forme plus d'acide que le *bacille turc* et il est plus résistant à la chaleur. Il n'est tué que par chauffage d'un quart d'heure à 70° .

C) LE BACILLE FIN, qui n'existe pas toujours dans le Yoghourt, est beaucoup plus ténu que les précédents ($3\ \mu$ sur $0\ \mu\ 3$).

Il est immobile, anaérobique facultatif, Gram-positif.

Il acidifie le lait sans le coaguler.

II. — Le Diplocoque se rencontre toujours en abondance. Il mesure en moyenne $0\ \mu\ 5$ de diamètre. Il a un côté aplati comme le gonocoque, ou bien il est un peu plus pointu et sous forme de diplocoques comme les pneumo ou les entérocoques, entourés d'une capsule assez nette.

Il prend le Gram.

Aérobie, anaérobique facultatif, il se développe facilement dans les milieux de culture spéciaux des bacilles à la température optima de $37-40^{\circ}$.

Il coagule le lait.

III. — Les levures appartiennent à 2 espèces différentes : une ovale et l'autre oblongue.

A) La levure ovale se colore par les colorants basiques et prend le Gram.

Aérobie, elle se développe dans les milieux ordinaires, mais elle aime surtout les milieux lactosés, ou glucosés à 37° .

Elle acidifie le lait sans le coaguler.

B) La levure oblongue est une myco-levure grosse de longueur variable et dont les éléments peuvent se réunir pour former une chaînette.

Aérobie, anaréobie facultatif, elle se développe facilement dans les milieux ordinaires à la température ordinaire, mais elle aime surtout les milieux glucosés.

Elle ne coagule pas le lait.

π
v *

Le *bacille ture*, le *bacille homogène* et le diplocoque, ensemencés séparément et abondamment dans du lait, le coagulent en masse, et les cultures ont le goût du Yoghourt, le meilleur étant fourni par le *bacille ture*. Le Yoghourt préparé avec le diplocoque est fade.

Le *bacille fin* n'a aucune influence. La présence de la levure ovale rend rapide la coagulation du lait et facilite ainsi la préparation du Yoghourt, mais celui-ci abandonné à la température ordinaire pendant plus de 1 à 2 jours, aigrit à tel point, qu'on ne peut plus s'en servir. La présence de la myco-levure répandue dans la nature est tout à fait accidentelle ; c'est un saprophyte.

Pavliak a observé que la présence des levures du genre *Torula* prolonge la virulence du *Bacillus bulgaricus*. C'est tout à fait exact, et la culture de ce ferment en présence de celle de *Torula*, à l'étuve à 35°, donne encore, après un mois, du Yoghourt de bonne qualité. On ne peut cependant avancer que la présence de *Torula* soit indispensable pour la préparation d'un bon Yoghourt, au contraire, car on a obtenu ainsi des produits ayant un goût de levure.

Des données précédentes, il résulte que pour obtenir un Yoghourt savoureux, ne contenant pas de microorganismes inutiles, sinon nuisibles, provenant du ferment (maya) employé et qui influencent sa qualité, il faut avoir recours à un mode de préparation scientifique par l'emploi d'un ferment sélectionné. Il semble que le ferment qui convienne le mieux soit le *bacille ture* de Refik Bey, seul ou associé au diplocoque. On ensemence abondamment à l'aide de cultures pures et on abandonne à 40°. La coagulation se manifeste au bout de 3 à 4 heures. Le Yoghourt ainsi préparé se conserve parfaitement, même maintenu longtemps à l'étuve à 37°, sans aigrir et sans perdre sa saveur.

Si on associe le *Bacille homogène*, le Yoghourt devient un peu plus aigre, tandis que le goût du Yoghourt frais et bien préparé est doux ; ce bon goût tourne toutefois vers l'aigre avec le temps et la chaleur. Le Yoghourt de sac se conserve mieux que le Yoghourt de bol.

La composition chimique du Yoghourt et des autres préparations lactées n'est pas constante. Comme on le conçoit, la composition de chaque espèce de Yoghourt dépend d'abord du lait avec lequel il est préparé. Au point de vue alimentaire, le Yoghourt de sac est plus nourrissant que celui de bol, comme contenant plus de beurre et de matières azotées et moins d'eau. Il fournit à l'organisme le double de calories que celui de bol.

Le Yoghourt est un aliment de goût agréable, très facile à digérer (surtout quand on enlève la croûte qui se forme à sa surface), légèrement diurétique et laxatif. Son emploi est préconisé dans les affections stomacales et intestinales, dans l'auto-intoxication, la constipation, les maladies du foie, la dysenterie chronique, la fièvre typhoïde, les néphrites chroniques et le diabète (Klemperer). Il est recommandé au petit déjeuner du matin, avec ou sans sucre, miel, etc., et il agit alors contre la constipation. D'autres le recommandent le soir, admettant que, dans ce cas, la présence des diastases lactiques dans le tube digestif soulage le foie et les reins et assure ainsi un sommeil tranquille. En ce qui concerne la quantité qu'on doit consommer journellement, il est recommandé un petit bol aux enfants et 1 ou 2 aux grandes personnes. Metchnikoff soutient que la quantité journalière ne doit pas dépasser 700 g. tandis que d'autres n'admettent pas de limites; ils se basent sur la quantité que l'estomac de chacun tolère.

LEBEN

Sous le nom de *Leben raïb*, ou tout simplement de *Leben*, on désigne, dans l'Orient arabe, un lait caillé spécial, dont l'usage alimentaire est universellement répandu parmi les populations levantines. En Egypte, où les auteurs les plus anciens le mentionnent, on le prépare au moyen du lait de bufflesse, de vache ou de chèvre. Outre sa popularité comme aliment, il a joué et joue encore, un rôle prépondérant dans la médecine arabe.

En Algérie, le *Leben* forme avec le couscous (cous-coussou) et la Kesra (galette d'orge) la base de l'alimentation des indigènes. Mais le *Leben* d'Algérie est très différent de celui qu'on mange en Egypte, et sa fermentation est due à d'autres microorganismes. Outre le *leben* d'Egypte et celui d'Algérie, il est fort probable qu'il se fabrique encore ailleurs d'autres variétés de *Leben*.

Leben d'Egypte [273]

Chaque famille fabrique son *Leben*, et en conserve un peu, en guise de levain, pour provoquer au fur et à mesure des besoins, la fermentation de nouvelles quantités de lait frais.

Depuis des siècles, l'opération s'accomplit de la manière suivante : le lait est d'abord porté à l'ébullition, puis versé dans des jattes où on le laisse refroidir. Lorsqu'il a atteint la température de 40° environ, on l'ensemence avec un peu de vieux *Leben* (*roba*). Au bout de 6 heures en moyenne en été, un peu plus en hiver, le lait est pris, il forme un caillot assez floconneux, blanc, d'où exsude du sérum en petite quantité. C'est alors un mets d'un goût aigrelet, sucré, frais et réellement fort agréable, d'un arôme *sui generis*. Il est très apprécié des indigènes et on le sert même souvent sur les tables européennes.

Si on laisse la fermentation se prolonger, l'acidité augmente et, au bout de 2 ou 3 jours, le *Leben* est immangeable,

Leben d'Algérie

La façon de le préparer est fort variable mais tous les procédés employés reviennent, à peu près, à celui décrit par Arnold.

La femme indigène trait directement le lait dans un vase de terre (*bougal*) où il est abandonné à lui-même. Le lendemain, le lait est généralement caillé ; dans le cas contraire, on arrive à ce résultat en le chauffant légèrement, et on l'introduit dans une outre de peau de bouc ou de mouton (*chekoua*)—tannée d'une façon spéciale avec de la poudre d'écorce de Pin d'Alep (*Abara*) additionnée de sel marin — et dont la paroi interne est tapissée d'un enduit gluant formé par les microorganismes ; on l'agite un temps plus ou moins long de façon à en séparer une partie du beurre, et à cet effet, on suspend la *chekoua* à un support formé de 3 perches, ou à un arbre, et on lui imprime un mouvement de va-et-vient.

Dans beaucoup de tribus, le lait fraîchement trait est mis directement dans l'outre où il subit le même traitement.

Ainsi préparé, le leben constitue un liquide blanchâtre, d'une saveur légèrement piquante et non désagréable. Les indigènes qui le préfèrent plus acide y ajoutent une certaine quantité d'eau et obtiennent ainsi ce qu'ils appellent le leben karse (leben aigre).

Dans la province de Constantine, les indigènes mettent en macération avec de l'eau, la veille du jour où ils doivent préparer le leben, dans le bougal ou dans la chekoua, la racine fraîche de *Atractylis gummifera* (El-Hedad) ou celle du *Carlina involucrata*. Ces plantes qui possèdent une odeur balsamique sont simplement destinées à parfumer le leben et à le rendre ainsi plus agréable.

Flore du Leben

D'après Rist et Khoury, la flore du Leben d'Egypte est constituée par :

- 1°) un streptobacille : *Streptobacillus lebenis*
- 2°) un bacille grêle : *Bacillus lebenis*
- 3°) un diplocoque : *Diplococcus lebenis*

4°) deux levures : *Saccharomyces lebenis*
Mycoderma lebenis

Ces ferments se retrouvent dans le Yoghourt dont l'analyse et le goût correspondent à ceux que Rist et Khoury ont décrit. Aussi d'après Guerbet [125], il y aurait lieu de confondre le Yoghourt et le Leben d'Egypte. Le Streptobacille suffirait à lui seul pour assurer la préparation du Yoghourt.

Composition. — Le Leben renferme de l'acide lactique en minime quantité, la coagulation étant surtout due à une sécrétion de levure, et de l'alcool qui, d'après Rist et Khoury procéderait de l'action de levures sur le galactose formé aux dépens du lactose par les bacilles, et qui, pour Guerbet, serait uniquement d'origine bacillaire.

GIODDU

Le *Gioddu* ou *miciuratu* est un lait fermenté dont l'usage est surtout répandu en Sardaigne. Les paysans le préparent [122] en mélangeant un peu de levain de pain à une certaine quantité de lait, (de vache, de jument, ou de brebis) contenu dans des récipients de liège ou de terre cuite. En hiver, on place ces récipients couverts d'une étoffe de laine, au coin du feu, de façon à les maintenir à une température de 20 à 25° ; en été la température ordinaire est suffisante. Le lait ainsi traité se coagule au bout de quelques heures, et le lendemain il renferme une très grande quantité de germes ; il sent alors très mauvais, et ne peut pas servir à l'alimentation. Pour arriver à avoir un bon produit, il faut faire de 5 à 6 passages, de 24 heures en 24 heures en mélangeant un peu de lait fermenté à du lait frais préalablement bouilli. Quand on a obtenu ainsi le *Gioddu* (ce mot en patois sarde signifie *lait amélioré*) on peut en préparer indéfiniment en se servant toujours des mêmes récipients, dans lesquels il en reste toujours en quantité suffisante pour faire fermenter le nouveau lait qu'on y ajoute.

Au point de vue bactériologique on trouve dans le *Gioddu* : le *Bact. lactis acidi*, le *Bact. casei* et une levure.

Au point de vue physiologique et thérapeutique, le *Gioddu* présente les avantages des autres laits fermentés.

MAZUN

Le Mazun, Madzonn ou Mazan est un lait caillé et aromatisé, très voisin du Yoghourt, obtenu en Arménie à l'aide du lait de bufflesse, de chèvre, ou de brebis, traité par un ferment, qui produit beaucoup d'acide lactique dextrogyre et peptonise la caséine.

Kalantar, Emmerling et Daggeli y ont trouvé l'*Oidium lactis*, divers ferments lactiques et levures qui décomposent le lactose en acide lactique, alcool et produits aromatiques, et le *Bacterium mazun*, formé de longs bâtonnets qui acidifient très fortement le lait. Puis Weigmann, Gruber et Huss, y ont décrit un nouveau bacille sporogène, le *acillus mazun* qui peptonise la caséine en lui donnant une forte odeur de fromage et donne de l'acide lactique droit,

DADHI

Le *Dadhi* est un lait fermenté de l'Inde qui ressemble beaucoup au Yoghourt ou au Leben. La fermentation y est produite par un streptothrix qui a un certain nombre de caractères communs avec le Bacille bulgare, le *Streptobacillus lebenis*, le bacille du Mazun, et quelques autres. Comme ces derniers, le streptothrix de l'Inde ne pousse pas en milieu ordinaire, produit de l'acide lactique aux dépens du lactose, et coagule la caséine sans produire dans le lait aucun autre changement ; de plus, ce streptothrix ne donne pas d'indol, il ne forme pas de peptone, il ne saponifie pas les graisses et il ne produit pas de gaz.

Sur gélose ordinaire il donne naissance à des formes en chaînettes.

Le bleu de méthylène y fait apparaître des granulations particulières colorées en rose.

D'après Chatterjee qui en a fait la description, ce streptothrix serait nuisible aux microbes pathogènes, ainsi qu'à certains protéolytiques du lait.

HUSLANKA

C'est un lait acide, voisin du précédent, goûté par les populations ruthènes dans les Carpathes Orientales et dans la Bukovine.

Certains laits fermentés de Scandinavie, dérivant de fermentations analogues, sont à rapprocher de ces laits orientaux ; ce sont le *Taette* et le *lange vei* utilisés depuis l'antiquité par les populations aryennes du Nord (Suède-Norvège) et le *Skir* islandais.

Le *Taette* ou *Taettemyelk* est un lait visqueux, épais, pas très coagulé, à odeur et à goût acides et agréables, renfermant de 0,3 à 0,5 p. 100 d'alcool en volume.

Olsen-Sopp, qui a fait l'étude bactériologique de ce lait, en a isolé :

1^o) Un streptobacille correspondant au *Bacillus acidi lactis longus*, décrit par Gerda Trosilli, et difficile à cultiver.

2^o) Le *Lactobacillus Taette*, très voisin du lactobacille du Yoghourt. Bacille long et large ($1 \mu 5$ de largeur) dont les colonies sont rondes, souvent anguleuses. Cette espèce croît de préférence sur bouillon de viande, de légumes et sur tous les milieux riches en amidon et en sucres.

3^o) Deux levures : le *Saccharomyces major Taette* et le *Saccharomyces minor Taette*, qui produisent la fermentation alcoolique du lactose.

Ces trois organismes sont nécessaires à la formation du *Taette*, mais, en outre, on y peut rencontrer accessoirement des *Torulas*, et si le *Taette* est très âgé, deux mucédinées : *Monilia lactis Taette* et *Oidium lactis* qui sont un signe de mauvaise qualité.

Le *Skir* est un lait caillé dont font usage les Islandais et que l'on conserve souvent plusieurs mois avant de le consommer.

Au point de vue bactériologique, ce lait renfermerait : un bacille paralactique qui paraît être le plus important ; (il ressemble au Bacille bulgare dont il se différencie surtout par son moindre pouvoir acidifiant), un bacille lactique, bâtonnet trapu, immobile, prenant le Gram, et une levure volumineuse ovale, prenant le Gram.

En résumé, on voit que toutes ces boissons fermentées sont le résultat de processus analogues, dans lesquels le sucre de lait joue le principal rôle. Sous l'action de levures et de microbes spéciaux présentant entre eux de grandes analogies (1), le lactose subit des fermentations dont les deux principales sont la fermentation lactique, donnant naissance à de l'acide lactique qui aigrit le lait, et la fermentation alcoolique, qui produit de l'alcool avec dégagement de gaz carbonique.

Suivant les cas, le lait est acide, ou acido-alcoolique et, si la fermentation s'opère dans un récipient fermé, le produit est gazeux. Le plus souvent, il s'agit de lait plus ou moins aigri. La caséine se coagule sous l'influence de l'acide lactique, mais lorsque la préparation comporte l'agitation répétée du produit comme dans le cas du Képhir, le coagulum se divise en fins grumeaux mieux assimilés par l'organisme (la caséine serait en partie solubilisée, peptonisée). D'autre fois, comme dans le Yoghourt, le lait reste solidifié en masse.

(1) D'après Makrinoff [203], suivi en cela par de nombreux expérimentateurs, le *Bacterium lactis acidii* Leichmann, le *Streptobacillus lebenis*, le *Bacterium mazun*, le *Bacillus bulgaricus* et le *Koernchenbacillus*, sont absolument identiques entre eux et constituent une même espèce qui comprend deux races : une qui forme des mucosités et qu'il propose de désigner sous le nom de *lactis acidii viscosus*, l'autre qui n'en fournit pas : le *B. lactis acidii viscosus*.

CHAPITRE IV

La Bactériothérapie lactique

Tissier avait montré [332-333] qu'en milieu sucré, une bactérie ferment acide (ferment mixte) peut arrêter l'action et le développement d'un ferment putride (ferment simple) et qu'un ferment acide fort peut arrêter l'action et le développement d'un autre ferment acide faible, ces actions empêchantes étant dues uniquement à la quantité des acides produits au cours de l'attaque de l'hydrate de carbone. La preuve était faite par là que l'on pouvait arrêter un processus putride quelconque, sans se servir d'antiseptiques, simplement en ajoutant au milieu, du sucre et des bactéries ferments acides quand celles-ci en sont absentes ; en produisant des acides, ces dernières paralysent l'action des microbes putréfiants et elles s'arrêtent d'elles-mêmes quand elles ont atteint leur acidité d'arrêt.

Il était donc logique d'admettre que des phénomènes analogues pouvaient se produire dans l'intestin, c'est-à-dire qu'on pouvait arrêter une putréfaction intestinale sans se servir de substances chimiques irritantes pour la muqueuse, simplement en favorisant dans le tube digestif la culture de ferments acides forts analogues à ceux de la flore du nourrisson normal.

A cet effet, Tissier faisait adopter au malade un régime végétarien strict, de manière à préparer un milieu chimique intestinal favorable aux espèces empêchantes qu'il administrait (*Bac. acidi paralactici*, ou symbiose de cette espèce avec

le *B. bifidus*) en culture dans l'eau peptonée lactosée. De plus, il faisait boire dans la journée, aux repas, une bouteille contenant 20 à 50 g. de lactose.

Tissier traita ainsi de nombreuses infections intestinales [325]. Il relate qu'au bout de quelques jours de traitement il pouvait déjà voir, à l'examen chimique et bactériologique, une modification certaine des selles qui n'étaient plus fétides et avaient une réaction légèrement acide. Il y constatait la réapparition et la multiplication progressive des bactéries de la flore intestinale inoffensive. En même temps, les troubles digestifs et les symptômes généraux s'amendaient. La constipation ou la diarrhée cessaient. La langue se nettoyait. Les urines ne contenaient plus autant de sulfo-conjugués. Les troubles d'auto-intoxication cardiovasculaires, pulmonaires, articulaires, nerveux, disparaissaient, mais plus lentement.

Metchnikoff, de son côté, préconisait l'emploi du lait caillé au bacille bulgare, à la dose journalière moyenne de 250 cc. Il n'apparut pas qu'un régime spécial fût nécessaire pour parvenir à « l'acclimatation » du ferment dans le colon. Ce résultat, avec un régime normal, était obtenu vers le 7^e jour des ingestions de cultures pures. La suppression des viandes dans le régime comme causes déterminantes de l'intoxication intestinale sembla tout à fait inutile en raison du pouvoir acidogène très élevé de l'espèce utilisée, pouvoir suffisant pour enrayer *in vitro* l'action putréfiante des microbes protéolytiques comme l'avaient établi incontestablement les expériences de Tissier.

Quels résultats pouvait-on espérer du ferment bulgare vivant en symbiose avec les microbes intestinaux ? Serait-il capable d'apporter une atténuation à leur virulence ?

Becquet, par des expériences *in vitro*, a montré que le bacille bulgare est capable d'entraver la vitalité et d'arrêter le développement du *B. acillus putrificus* que l'on rencontre fréquemment dans le contenu intestinal, surtout dans les gastro-entérites graves, ainsi que dans de très nombreux cas de péritonite et d'appendicite. Non seulement le *B. bulgare* s'oppose à la prolifération de ce germe lorsqu'on les cultive ensemble, mais il est encore susceptible d'en détruire une culture très florissante. Pour obtenir ce résultat, il est cependant indispensable que l'acidité produite par la pullulation du *B. bulgare* reste intégrale, la sécrétion particulière que l'on a attribuée à ce ferment n'entrant en jeu à aucun moment

pour remplir un rôle antiseptique vis-à-vis du *B. putrificus*. Le *B. bulgare* entravant totalement le développement du *B. putrificus*, le met par cela même, dans l'impossibilité absolue de fabriquer des toxines, dont l'action nocive est incontestée dans le processus morbide de certains états inflammatoires de la muqueuse intestinale. Mais il ne remplit aucune fonction antiseptique vis-à-vis de la toxine du *B. putrificus*, et ses sécrétions n'apportent aucune atténuation à la toxicité des poisons élaborés par la bactérie protéolytique.

Un même antagonisme certain a été signalé par Rosenthal et Charazain-Wetzel entre d'une part, le Bacille bulgare et d'autre part, les microbes du groupe *Coli-Eberth*, le *B. mesentericus*, le *B. proteus vulgaris*, les différents cocci : staphylocoques, entérocoques, etc... le Méningocoque, le bacille de Loeffler, le vibrion cholérique, et ces auteurs ont vu là un moyen de réaliser la prophylaxie des maladies causées par ces derniers germes. A cet effet, ils recommandaient, en même temps que l'absorption de lait caillé, des gargarismes au bouillon lactique et des toilettes au *B. bulgare* des cavités de la face.

Etudiant l'action du *B. bulgare* sur le *B. pyocyanique* [291], Rosenthal et Charazain-Wetzel ont fait les constatations suivantes :

1o) Une culture sur le lait du *B. bulgare*, âgée de 24 heures, ne permet pas le développement du *B. pyocyanique*.

2o) Un ensemencement simultané des deux microbes est suivi de la mort du *B. pyocyanique* en 48 heures.

3o) Un ensemencement du *B. bulgare* dans une culture de *B. pyocyanique* détermine la mort du *B. pyocyanique* en 96 heures, mais son pouvoir digestif est rapidement jugulé et la caséine reste inattaquée. Cette suspension du pouvoir tryptique s'observe même dans des cas où le *B. bulgare*, vivant en symbiose avec certains microbes (*B. perfringens* [282], *B. coli* [26]), se montre impuissant à les faire disparaître ; c'est un fait digne de remarque, et qui peut avoir en pathologie d'importantes conséquences.

Tous ces phénomènes d'antagonisme reconnaissent, comme unique cause, l'acidification du milieu (Rosenthal et Charazain-Wetzel). Dès que cette acidification est atténuée, on obtient aisément la culture en symbiose du *B. bulgare* et des germes qu'on lui oppose, ces derniers retrouvant toutes leurs propriétés,

De ces expériences *in vitro*, autorisant de nombreux espoirs, on est arrivé à l'expérimentation *in vivo*. C'est ainsi que Belonowski a montré [28] que le Bacille bulgare exerçait une influence marquée sur la flore excrémentielle des souris. Les modifications qu'il provoque sont : la diminution du nombre des bactéries, la transformation générale de la flore, la diminution de la faculté de provoquer la putréfaction, la virulence moindre des excréments. La comparaison de la flore des souris ayant absorbé du ferment, avec celle des souris ayant reçu de l'acide lactique, montre clairement que l'action des cultures du microbe bulgare sur la désinfection de l'intestin, tient non seulement à l'acide lactique, produit *in situ*, mais encore à un autre facteur dépendant probablement des bactéries elle-mêmes et de leurs produits de sécrétion. C'est ce qui ressort également des expériences de Von Kern : procédant à la numération des colonies du colibacille, avant et après traitement par la lactobacilline, chez des individus soumis à un certain régime alimentaire, il a constaté que le nombre de ces colonies pouvait tomber ainsi de 1.000 à 200, ce qui confirme du reste des recherches antérieures, en particulier celles de Wejuert ; et, stérilisant à 60° une culture de B. bulgare, il a obtenu, après précipitation par l'alcool, une solution de produits de ce bacille susceptible d'entraver *in vitro* la culture du colibacille.

Passant enfin aux applications thérapeutiques, aboutissement normal de toutes ces recherches, les auteurs prétendirent avoir trouvé là le moyen de réaliser la désinfection de l'intestin.

A titre indicatif, nous reproduisons le schéma d'un traitement des entérites par les ferments lactiques, donné par M. Béguet.

I. — Cas bénins, ou traitement préventif :

Prise d'essai de 30 g. de cultures de ferments lactiques (en bouillon végétal lactosé ou mieux en lait écrémé) le premier soir, puis progression en 48 heures, jusqu'à une dose constituant environ le cinquième de l'alimentation, à prendre en même temps que les aliments, pendant 8 à 15 jours.

Chez les nourrissons, il suffit en moyenne de 1 à 2 cuillérées à soupe avant chaque tétée ou biberon, et chez les adultes, de 250 g. à chaque repas,

2. — Cas moyens :

Diète hydrique le premier jour avec évacuation intestinale par purge ou lavage si c'est nécessaire, et prise d'essai de 30 à 50 g.

Les jours suivants, période transitoire avec alimentation exclusive en bouillon de légumes limpide, et doses croissantes de cultures de ferments lactiques en arrivant, en 48 heures, à 250 à 500 g. chez les nourrissons, et 500 à 1.000 g. chez les grands enfants ou les adultes.

Puis, dès sédation des symptômes inquiétants, reprise progressive d'une alimentation appropriée surtout stérile et digestible (farines maltées par exemple), en y ajoutant un cinquième de cultures de ferments lactiques aux repas pendant 8 à 15 jours après cette sédation.

3. — Cas graves :

Doses fortes immédiates, 300 ou 500 et même 800 g. chez les nourrissons, par prises séparées, de 3 heures en 3 heures, et continuées tous les jours, ou augmentées jusqu'à sédation des symptômes inquiétants.

Puis, reprise de l'alimentation appropriée, en y ajoutant une proportion d'un demi, puis d'un cinquième de cultures de ferments lactiques, aux repas, pendant 3 semaines après guérison apparente.

Tous les auteurs, Cohendy, Belonowski, Béguet, Pergher, etc... sont partisans des doses massives, seules efficaces ; le maximum, pour chaque prise, est à déterminer en considérant seulement la capacité de l'estomac et la tolérance de sa muqueuse par rapport à la culture des ferments lactiques, et pour 24 heures, en considérant le bon fonctionnement de la digestion gastrique. A la suite de leur emploi, et aussitôt après « l'acclimatation » du ferment dans le côlon, ils ont observé que la désinfection intestinale se manifeste d'abord par des modifications fonctionnelles qui se produisent par une désodorisation très notable des selles, jointe à une évacuation plus facile donnant l'impression d'une lubrification des matières fécales, qui sont alors formées de fragments agglomérés de couleur jaune. En même temps, disparaissent les symptômes intestinaux (diarrhée, coliques) et les symptômes

de résorption toxique (fièvre, éruptions cutanées). Enfin, la désinfection de l'intestin se manifeste par l'abaissement de près des 2/3 du rapport des sulfo-conjugés aux sulfates de l'urine.

Cette désinfection ne semble pas beaucoup augmenter par l'ingestion de sucres, même à doses élevées, 30 g., ce qui tendrait à prouver que ce ferment très énergique n'a pas besoin de fortes doses d'hydrates de carbone pour produire une acidité permettant d'établir un maximum de désinfection [65].

La multiplication du ferment se fait dans les 2/3 supérieurs du côlon, fait démontré grâce à un sujet d'expérience qui présentait la particularité d'être privé des 2/3 supérieurs de son gros intestin, isolés à la suite d'opérations, et chez qui l'acclimatation du ferment ne se fit pas [62].

L'acclimatation et, partant, la désinfection se prolongeraient deux semaines au moins après la dernière prise de ferment, ce qui fait qu'une cure suivie chaque mois pendant 15 jours serait suffisante pour obtenir une désinfection constante de l'intestin.

Mais au milieu du concert déloges visant le *B. bulgare*, il ne tarda pas à s'élever des voix discordantes provenant de l'école nord-américaine (Kendall, Cheplin, Rettger, Gompertz, Eggston, Normann, Bass, etc...) qui s'est occupée activement de la question au cours de ces dernières années. Les auteurs américains, qui admettent les conceptions de Metchnikoff sur l'antagonisme et la multiplication des microbes, ne sont pas d'accord sur ses conclusions. Ils nient l'efficacité thérapeutique des cultures de *B. bulgaricus*, du lait bulgare et autres préparations de *B. bulgaricus*, le proclamant incapable de s'acclimater dans le tube digestif de l'homme ou des animaux. C'est ainsi que Kopeloff déclara n'avoir retrouvé le ferment bulgare qu'une seule fois dans les déjections de 12 sujets soumis pendant 2 semaines à l'ingestion de ce ferment.

On administra alors le *B. bulgare* enrobé dans de la paraffine avec l'espoir qu'il gagnerait ainsi le côlon dans les conditions de viabilité et qu'il pourrait y exercer les résultats annoncés par Metchnikoff. Mais, même avec ce mode d'administration, ce n'est que tout à fait accidentellement que l'on retrouvait les bacilles dans les selles et en quantités infimes [22]. En effet, le *B. bulgare* est une bactérie spécifique du lait qui ne peut pas se développer dans l'intestin, même si

l'alimentation est lactée, car la plupart des constituants du lait n'atteignent pas, dans les conditions normales, l'intestin. Cheplin et Rettger sont même allés jusqu'à supposer que la bactérie identifiée dans les selles, par Metchnikoff et ses élèves, comme *B. bulgaricus* était en réalité *B. acidophilus* ; ces deux organismes se ressemblent tellement, en effet, qu'on peut aisément les prendre l'un pour l'autre. Le *B. acidophilus*, organisme intestinal, se serait multiplié grâce au lactose du lait qui, dans de nombreuses expériences du laboratoire de Metchnikoff, était consommé en grande quantité comme support du *B. bulgaricus*.

Or, Cheplin et Rettger ont montré que le lait administré en quantité suffisante provoque un développement rapide du *B. acidophilus* dans l'intestin. A l'appui de l'hypothèse de Cheplin et Rettger, on peut encore citer des faits plus frappants ; c'est ainsi que Pergher a démontré que les bacilles lactiques retrouvés dans les selles de Cobayes, alimentés avec du son largement imprégné de cultures de *B. bulgare*, n'étaient pas des représentants de cette dernière bactérie, mais des espèces particulières de bacilles lactiques que l'on retrouve facilement, et à l'état normal, dans les fèces des Cobayes. (Ces bacilles diffèrent du *B. bulgaricus* en ce qu'ils sont cultivables sur le lait-bile et à 37°). De même, quand le nourrisson, du fait d'une alimentation non adaptée, présente des troubles digestifs, le pourcentage des *B. bifidus* diminue beaucoup jusqu'à se réduire à des chiffres négligeables. Mais si l'on arrive à corriger ces troubles digestifs par une alimentation appropriée et l'usage des ferments lactiques (*B. bulgaricus*), et alors que, logiquement, c'est le *B. bulgare* qui devrait représenter, tout au moins au début, la totalité de la flore microbienne, et ceci d'autant plus, que toutes les conditions idéales pour l'adaptation et la multiplication du Bacille ont été réalisées, c'est le *B. bifidus* qui redevient rapidement le représentant principal de presque toute la flore intestinale.

Des expériences analogues, et qui ont conduit aux mêmes résultats, ont été faites par Distaso et Schiller [77]. On peut donc en conclure, que, même en se mettant dans les meilleures conditions imaginables, on ne parvient pas à faire pousser dans l'intestin des microbes étrangers à cet intestin. Ce sont toujours les microbes du tube digestif en question, et surtout ceux qui poussent de préférence dans les milieux sucrés, qui

ont le dessus. Il s'agit donc d'un phénomène de concurrence où le mieux favorisé triomphe de ses rivaux.

A la suite de ces constatations, les Américains préconisèrent l'emploi thérapeutique du *B. acidophilus* (1918). Cet organisme qui, par certains côtés, ressemble beaucoup au *B. bulgaricus* et même au *B. bifidus*, en diffère essentiellement en ce qu'il est d'abord, et peut-être exclusivement, un organisme intestinal. Le *B. bifidus* est aussi un organisme intestinal, mais ses conditions d'implantation sont beaucoup plus difficiles que celles du *B. acidophilus* qui, utilisant mieux les glucides du type glucose, peut s'adapter, dans l'intestin, à un milieu hydrocarboné quelconque, alors que le lactose est presque indispensable au *B. bifidus*.

Le Bacille acidophile présente sur le bulgare l'avantage de mieux résister à l'action des sucs digestifs. Sogastume et Solari ont montré, en effet, que des solutions acides (pH 1,2 à 1,9) tuent le *B. bulgare* tandis qu'elles modifient à peine l'acidophile ; leurs expériences faites *in vivo* avec le suc gastrique filtré sur bougie, ont démontré que le *B. acidophilus* résiste à une acidité totale, exprimée en HCl, égale à 2,49 p. 1.000, tandis que le *B. bulgare* ne tolère qu'une acidité de 2,04 p. 1.000. De plus, au contraire du *B. bulgare*, l'Acidophile n'est pas atténué par le suc duodénal (1) (Sogastume et Solari, Pergher).

Enfin le *B. acidophilus* peut facilement être implanté dans le conduit intestinal de l'homme et des animaux inférieurs. Là encore, des expériences *in vitro* (Walter Kulp) ont montré, qu'au contraire du *B. bulgare*, il est capable de résister et de se multiplier en présence d'indol et de phénol, c'est-à-dire des produits aromatiques qui se forment toujours dans le gros intestin, même lorsque l'usage des ferments lactiques est poursuivi pendant très longtemps.

In vivo, toutes les tentatives d'implantation du Bacille, faite par les auteurs américains, furent couronnées de succès ; le *B. acidophilus* devint pendant toute la durée du traitement l'organisme prédominant dans les fèces. Il s'y retrouvait vivant, un isolement donnant jusqu'à 65 à 70 p. 100 de colonies acidophiles.

(1) Une *Torula* isolée du lait résista beaucoup mieux que les 2 bacilles lactiques à l'action des différentes solutions étudiées par Sogastume et Solari.

Le milieu de choix préconisé par les Américains pour l'administration du ferment est le lait. — *Acidophilus milk* — que l'on prépare comme suit :

Le lait, le plus souvent écrémé, est chauffé jusqu'au voisinage de son point d'ébullition pendant 1 heure ou stérilisé à 115-120° pendant 20 à 25 minutes, puis refroidi à 37° etensemencé avec 2 à 3 p. 100 de cultures pures de *B. à acidophilus*. Le lait est maintenu à cette température jusqu'à coagulation, c'est-à-dire, environ, pendant 20 à 24 heures, puis il est agité et refroidi. Il est alors bon pour la consommation.

Un autre mode de fabrication consiste à chauffer d'abord le lait à 90° pendant 1 heure, puis à le refroidir à 37° et à le maintenir à cette température pendant 3 à 4 heures. On le chauffe ensuite de nouveau à 90° pendant 1 heure, on le refroidit à 37° et finalement on l'ensemence.

Les inconvénients provenant de la difficulté de la préparation du lait, à cause des contaminations si fréquentes, sont surmontés par l'emploi d'un opérateur soigneux et compétent et la surveillance d'un bactériologiste expérimenté. Grâce à des examens constants et des réinoculations de cultures (les cultures-mères doivent être transplantées tous les 4 ou 5 jours sur du lait stérile à 37°), on peut maintenir le lait non contaminé et suffisamment riche en bacilles.

Un bon lait acidophile possède un goût et une odeur agréables ; il est faiblement acide (10 cc. de lait sont neutralisés par 9cc de soude décijnormale environ). Son caillé, lisse et mou, est de consistance crémeuse, homogène. Il se conserve longtemps à la température ordinaire, sans que ses propriétés s'altèrent. Il ressemble beaucoup au lait caillé si populaire dans toute la Suède, « le flûnbunke ». Il constitue un aliment, en même temps qu'un médicament, et il est très apprécié aux Etats-Unis comme boisson hygiénique.

Gompertz et Vorhaus préfèrent, au lait acidophile, un bouillon de culture, qu'ils trouvent plus pratique. Leur bouillon a la composition suivante ;

Eau distillée	1.000 cc.
Extrait Liebig	4 g.
Peptone de Merck	10 »
Chlorure de Sodium ⁽¹⁾	5 »

MODUS FACIENDI. — On chauffe jusqu'à dissolution complète en remuant constamment, on ajuste la réaction à pH 6,9-7,0 et on stérilise. Après refroidissement on filtre au papier, et on ajoute au filtrat 5 p. 100 de lactose.

On répartit en flacons d'un demi-litre à raison de 300 cc. par flacon, et on stérilise à l'autoclave. Après refroidissement, on ensemence et on laisse 60 heures à 37° 5. Après ce temps, on décante le liquide clair qui surnage, et qui contient environ 100 millions de bacilles par centimètre cube. On le répartit en flacons stériles de 150 cc. que l'on maintient au frais jusqu'au moment de l'emploi.

Dans ce milieu, la culture du *B. acidophilus* ne devient perceptible qu'au bout de 48 heures ; elle est épaisse, lourde, visqueuse, et tombe rapidement au fond, laissant limpide le liquide qui surnage. Au contraire, les microbes qui contaminent le plus souvent les laboratoires (*B. subtilis* - Staphylocoque blanc) y croissent abondamment en 24 heures donnant une culture de densité uniforme. Aussi les flacons contaminés sont-ils facilement reconnus et rejetés.

Ce sont Cheplin et Rettger qui ont démontré, que la meilleure méthode pour opérer la transformation de la flore intestinale, consistait dans l'administration de Lait acidophile utilisé par eux, pour la première fois en 1920, à raison de 500 à 1000 cc. par jour, pris en 2 ou 3 fois, et pendant 4 à 7 jours.

L'emploi du *B. acidophilus* produisit les meilleurs résultats dans des cas de constipations opiniâtres, de diarrhées sévères, non infectieuses ou consécutives à des attaques de dysenterie

(1) Il semble que la substitution du NaCl par le Phosphate de sodium, qui par son pouvoir tampon neutraliserait l'acidité qui se développe dans le milieu, augmenterait la durée de vitalité de la culture.

bacillaire, et au cours d'autres états intestinaux tels qu'entérocolite mucomembraneuse avec selles sanguinolentes, sprue, eczémas, etc... [263]. Chez tous les malades bénéficiant du traitement, la flore intestinale protéolytique faisait place à une flore acidurique.

Gompertz et Vorhaus [108] estiment qu'il faut attribuer, les bénéfices du traitement au *B. acidophilus*, à la diminution des colibacilles et des produits qu'ils élaborent. Avant le traitement, la flore fécale montre des bacilles Gram-négatifs (groupe du *B. coli*) en grande prédominance, représentant souvent 90 ou 95 p. 100 de la totalité des bactéries. Deux ou trois jours après le début de l'administration des bacilles acidophiles, on commence à les retrouver dans les selles. A partir de ce moment, ils augmentent sans cesse jusqu'à représenter environ 90 p. 100 des microorganismes totaux, les *B. coli* tombant à moins de 10 p. 100. Mais lorsque cesse l'administration du ferment, le coli commence à se multiplier à nouveau, lentement au début, jusqu'au 5 ou 6^e jour où il reprend alors sa place prédominante dans la flore intestinale. Cependant, si on ajoute au régime suivi, du lactose ou de la dextrine, cette transition peut être considérablement retardée.

En même temps que le changement de flore, il se produit un changement notable dans les caractères physiques des selles qui deviennent plus abondantes, plus molles, moins foncées, et comparativement sans odeur.

Dans leurs essais, Gompertz et Vorhaus ont employé le *B. acidophilus* sous différentes formes :

par la bouche : lait acidophile et, plus tard, cultures en bouillon nutritif.

par l'anus : on introduit, lentement, et sous pression, 2 onces ou plus de bouillon dans le rectum, après un lavement d'eau pure. Cette méthode a l'avantage de produire une implantation rapide, mais doit être complétée par l'administration buccale.

Gompertz et Vorhaus préfèrent les bouillons de culture au Lait acidophile, qui doit être pris en grandes quantités et dont le goût est très désagréable à certaines personnes. Les bouillons de culture sont plus maniables, et on peut en faire sa provision pour une semaine à la fois. Ils les administrent à la dose de 1 à 2 cuillerées à soupe, 3 et 4 fois par jour,

avant les repas, dans du lait, jus d'orange, lactose et eau de Vichy. L'implantation se fait toujours aussi rapidement qu'avec le lait et se maintient aussi longtemps.

Cheplin, Fulmer et Barney n'ont fait usage que de Lait acidophile, à la dose quotidienne de 1.000 cc. additionnés de 50 à 100 g. de lactose, pris en 3 fois, 2 à 3 heures après les repas, sans aucune modification du régime habituel. Ils ont pu observer que :

a) le *B. acidophilus* s'acclimata dans le tube digestif, n'élabore aucun produit toxique et doit être considéré comme un microbe strictement non putréfiant.

b) le changement de flore peut être maintenu aussi longtemps que dure l'administration des cultures.

c) la valeur thérapeutique du bacille est due, non seulement au fait qu'il supprime le *B. coli* (Gompertz et Vorhaus), mais aussi à son influence inhibitrice sur le *B. welchii*, *B. proteus*, *B. putrificus*, *B. botulique*, *B. histolyticus*, *B. sporogenes*, *B. bellonensis*, et autres microbes intestinaux toxigènes.

Ses effets favorables, en simplifiant la flore fécale complexe, se manifestent de deux façons bien définies :

1°) DANS LA CONSTIPATION : Les caractères physiques des fèces sont changés notablement ; elles deviennent jaunes, molles, comparativement sans odeur, et ressemblent tout à fait à la selle infantile typique. La difficulté de la défécation disparaît.

ET DANS LA DIARRHÉE ET LA COLITE MUQUEUSE : On observe une formation graduelle du bol fécal, résultant finalement en selles molles, légères et partiellement formées, avec complète disparition du mucus.

2°) Amélioration marquée du tableau clinique par la disparition des symptômes toxiques qui existaient auparavant.

N. Kopeloff a posé, en principe, que le soulagement obtenu, dans la constipation chronique et dans la diarrhée, par ingestion du Lait acidophile, pouvait être dû à plusieurs facteurs, savoir :

1^o) Addition d'une quantité considérable d'eau au régime journalier.

2^o) Présence d'une quantité considérable d'acide lactique dans les produits de désintégration du *B. acidophilus*.

3^o) Interprétation strictement bactériologique : résultats dûs à la présence des bacilles vivants.

Les expériences qu'il fit pour vérifier la justesse de ces hypothèses peuvent se résumer comme suit :

1) L'action du Lait acidophile, n'est pas un phénomène physique, le lait stérilisé ne produisant pas les mêmes effets que les cultures.

2) Ce n'est pas non plus un phénomène strictement chimique, les cultures pasteurisées restant inactives.

Des essais sont encore en cours, ayant pour but de déterminer l'activité du Lait acidophile filtré au Berkefeld et contenant par conséquent les acides essentiels, les sels et enzymes, mais aucune bactérie vivante. Il semble, jusqu'à présent, que ce filtrat ait peu d'efficacité.

3) L'action apparaît être essentiellement due aux microbes vivants, et résider dans la production *sur place* d'une quantité suffisante d'acide lactique capable d'entraver le développement et d'amener la disparition des microbes protéolytiques, ainsi qu'il résulte d'expériences *in vitro* faites par Kopeloff [171], Torrey et Kahn, Aznar et Jimenez [148], Cheplin et Wiseman, etc... ; les effets thérapeutiques obtenus par ingestion de cultures de *B. acidophilus* chez les sujets atteints de troubles variés de l'intestin, venant à l'appui des observations faites *in vitro*.

4) La constipation chronique s'est trouvée soulagée pendant les 6 mois qui ont suivi la dernière ingestion de Lait acidophile.

5) Des quantités appréciables de bacilles *vivants* ont été isolés des selles de malades plusieurs mois après l'ingestion du lait.

Ces conclusions sont actuellement combattues par G. Ninn qui vient tout dernièrement d'exposer de nouvelles conceptions sur le mécanisme de l'action des ferments lactiques en

thérapeutique [233]. Adoptant les conclusions de Pergher sur le non acclimatement et l'impossibilité de prolifération dans la cavité intestinale du *B. bulgaricus*, à qui il donne cependant la préférence sur le *B. acidophilus*, il en arrive à poser que l'action des ferments lactiques ne consiste pas dans un antagonisme vis-à-vis des bactéries anormales qu'ils détruiraient ou expulseraient. Leur action serait surtout indirecte, et ils exerceraient une influence spéciale, non pas dans le gros intestin, mais dans l'intestin grêle, qui, dans les conditions pathologiques locales ou générales, devient le siège des microbes qui affaiblissent et altèrent ses fonctions normales : sécrétrice, absorbante et bactéricide. Le bénéfice de la bactériothérapie lactique serait dû, seulement pour une petite partie, à l'action directe, c'est-à-dire à l'antagonisme sur les microbes qui se trouvent anormalement dans l'intestin grêle ; cette action directe serait sous la conséquence des produits antiseptiques et bactéricides contenus dans les cultures liquides de bacilles lactiques et pour cette raison, on pourrait l'obtenir même avec des cultures liquides tuées. La plus grosse partie des bons effets de la médication lactique serait due à une action indirecte s'expliquant par le double mécanisme suivant :

a) Action exportative (expulsive), effectuée par les fortes doses de ferments lactiques liquides, des produits irritatifs et des microbes pathologiquement présents dans l'intestin grêle.

b) Rétablissement des fonctions normales, sécrétrice, absorbante et bactéricide de l'intestin grêle.

Sans vouloir prendre parti dans le débat ainsi ouvert, nous devons faire observer que l'adoption de ces conclusions signifierait le retour pur et simple à l'ingestion d'acide lactique en substance (déjà préconisé par le Pr Pouchet sous forme d'acide lactyllactique) qui, dans de nombreuses expériences où il fut employé parallèlement aux cultures de ferments lactiques, n'a pas produit les mêmes bons effets que ces derniers. De nombreux auteurs (Rovighi, Winternitz) sont au contraire d'avis que l'ingestion d'acide lactique n'a qu'une faible influence sur la putréfaction intestinale. Enfin, nous verrons plus loin que les bons résultats attribués à l'ingestion de cultures de bacilles lactiques peuvent être obtenus sans aucune ingestion de ce genre.

Depuis les travaux de l'école de Metchnikoff, on admet communément que les entérites vont de pair avec les putréfactions, d'où l'institution d'une thérapeutique consistant à favoriser les fermentations lactiques. Or, certaines statistiques nous montrent que les putréfactions intestinales ne sont peut-être pas aussi répandues qu'on semble le croire, et que beaucoup d'intestins sont au contraire le siège de fermentations exagérées. C'est ainsi que d'une statistique fournie par Goiffon et Dony, et portant sur 1.263 selles, examinées par eux, il résulte que la moitié comportait un excès de fermentations, et un tiers seulement des putréfactions. Ces données permettent de comprendre pourquoi la médication lactique, appliquée systématiquement, ne donnait pas toujours des résultats favorables ; il est en effet évident, qu'elle allait à l'inverse de ce qu'il fallait, quand elle augmentait des fermentations intestinales déjà exagérées. Chez de tels malades, il convient, au contraire, d'instituer un régime dépourvu d'amidon et de cellulose, et comportant viandes, poissons, œufs, crème, beurre, etc. ; enfin, l'adjonction de carbonate de chaux, ou plus généralement de sels de chaux, peut-être utile.

Un excès de fermentations hydrocarbonées se rencontre, avec une prédominance constante, même quand il n'existe pas de troubles digestifs apparents, chez deux catégories d'êtres humains : les tuberculeux pulmonaires et les enfants (Le Noir et Goiffon, Courcoux et Godel, Goiffon et Blasko). Nous laisserons à d'autres le soin de discuter s'il y a quelque relation de cause à effet entre cet état fermentatif et la tuberculose, ou plutôt, si cet état est le résultat commun d'un même syndrome glandulaire ou végétatif [104], pour ne nous occuper que de la question de la Bactériothérapie lactique qui, de ce fait, semble bien devoir être, *à priori*, contre-indiquée chez les enfants, mais surtout chez les tuberculeux, et pour une autre raison encore. Labbé et Vitry [186], à la suite d'une série d'expériences, ont pu, en effet, vérifier les affirmations faites à plusieurs reprises, et selon lesquelles la médication lactique a pour résultat de faire diminuer les sulfo-éthers urinaires d'une façon soit absolue, soit relative ; dosant systématiquement, et jour à jour, l'azote et les sulfo-éthers urinaires, ils ont constaté, qu'avec un régime constant l'azote urinaire diminue très nettement pendant les périodes de bactériothérapie. Dans une première série d'expériences le coefficient d'assimilation

azotée $\frac{\text{Az. urinaire}}{\text{Az. alimentaire}}$ tomba de 77 à 64 p. 100 et de 91 à 83 et 81 p. 100 dans une 2^e série. La bactériothérapie lactique diminue donc l'assimilation azotée. Cette constatation est du reste conforme à la logique : les bacilles lactiques gênant le développement des microbes protéolytiques, ils gênent, par conséquent, la protéolyse ; or, la désagrégation de l'albumine est due, pour une part, aux microorganismes de l'intestin. Cette constatation explique la baisse du chiffre total des sulfo-éthers, passé de 0 g. 1470 à 0 g. 1200, sous l'influence de la bactériothérapie lactique ; ces corps, fidèles témoins de l'absorption azotée, diminuent quand l'azote urinaire diminue également.

La bactériothérapie lactique est donc contre-indiquée dans tous les cas où le médecin cherche à assurer au malade une alimentation azotée, ce qui est en particulier le cas des tuberculeux où la puissance d'absorption azotée est faible, et chez qui il apparaît inutile et même dangereux d'introduire une médication qui, si elle est active, agit en diminuant encore le coefficient d'assimilation azotée.

De ces données, il résulte que la Bactériothérapie ne devrait être instituée qu'à bon escient, d'où la nécessité d'une investigation coprologique préalable qui renseignera sur l'orientation de la flore fécale du côté des fermentations ou des putréfactions.

CHAPITRE V

Les préparations lactiques du commerce

A la suite de la place importante prise en thérapeutique par les ferments lactiques, et dans le but de suppléer aux différents laits caillés qu'il est difficile, sinon impossible, de se procurer partout dans l'état de fraîcheur voulue, et dont les grandes quantités nécessaires pour l'efficacité du traitement sont quelquefois difficilement ingérées ou tolérées par les malades, sont apparus dans le commerce des bouillons, poudres ou comprimés renfermant les bactéries spécifiques et destinées, soit à être absorbés tels que, soit à permettre la préparation à domicile des laits fermentés.

Les milieux liquides le plus souvent utilisés pour l'administration des ferments lactiques sont :

LE LAIT ÉCRÉMÉ. — Lait de vache écrémé par centrifugation aussitôt la traite et stérilisé à 115° pendant 20 minutes en flacons de 150 cc. du type biberon, contenant chacun 100 cc.

LE SÉRUM DE LAIT SUCRÉ ET PEPTONISÉ de Cohendy. — On fait bouillir le lait doucement pendant 5 minutes ; on ajoute ensuite au lait bouillant 1 cc 5 d'HCl par litre : la caséine se coagule entièrement. Quelques minutes après, séparer à l'aide d'une passoire la caséine et le sérum, recueillir ce dernier, l'alcaliniser et ajouter pour un litre de sérum ;

300 g. d'eau.
 3 » de gélatine.
 15 » de sucre de canne.
 15 » de peptone Chapoteaut ou Witte.

L'EAU PEPTONISÉE LACTOSÉE de Tissier [325] :

Peptone 10 g.	NaCl	5 g.
Lactose 20 g.	Eau	1.000 g.

LE BOUILLON VÉGÉTAL LACTOSÉ de Béguet. — On fait cuire 225 g. de haricots secs par litre d'eau jusqu'à début de ramollissement et on ajoute 25 g. de riz. On fait bouillir 10 minutes, on ramène au volume primitif et on ajoute 40 g. de lactose par litre. On fait bouillir à nouveau 5 minutes. On décante, on répartit en flacon de 150 cc. contenant 100 cc. chacun et on stérilise à 115° pendant 20 minutes.

Dans les cas où les ingestions de lait fermenté deviennent pénibles pour l'estomac assez intolérant des malades d'entérites, Cohendy emploie des dilutions de sirop de malt marquant au densimètre 2,5 à 3, à la température de 15°, et dont la réaction doit être neutre. Toute addition de sel ou de de peptone est inutile. Après 24 ou 48 heures d'étuve à 36°, ce milieu donne d'abondantes cultures constituant, une boisson légèrement acide généralement bien tolérée.

Dans les poudres et les comprimés, les ferments lactiques desséchés sont incorporés à du lactose.

Les ferments lactiques le plus souvent rencontrés dans ces préparations sont le *B. lacticus*, le *B. bulgaricus*, le *B. bifidus*, le *Streptococcus acidilactici*, le *B. caucasicus* ; on y trouve aussi des levures. Mais de nombreux auteurs : Metchnikoff [213], Grimbert, Luerssen et Kuhn, Oehler, Klotz, Henneberg, Gabathuler, Effront, A. Berthelot et M. Bertrand [33], Bornand, Maheu, Carbone, Kopeloff [171], etc... qui ont eu à examiner de nombreuses préparations pharmaceutiques de ce genre ont constaté qu'au lieu de ferments lactiques, celles-ci renfermaient quelquefois d'autres microbes tout différents et parfois nuisibles. Il arrive que l'on constate microscopiquement la présence du *Bacille bulgare* et de *diplostreptocoques* mais l'ensemencement dans le lait ou dans les milieux appropriés ne donne lieu à aucun développement de ces ferments

lactiques. Très souvent on isole des bacilles protéolytiques vulgaires, aérobies et anaérobies, tels que *B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. fluorescens*, *B. liquefaciens* etc., mais les bacilles spécifiques sont morts.

Enfin de nombreux échantillons examinés par ces auteurs ne contenaient aucun germe vivant.

Examinant 46 échantillons de préparations sèches, Maheu a obtenu les résultats suivants (ensemencement de 0 g. 50 de comprimé dans 100 cc. de bouillon de touraillon additionné, de craie):

10 variétés de comprimés ont fourni moins de 0 g. 50 d'acide lactique par l. en 48 h.

6	»	»	»	»	1 g.	»	»
4	»	»	»	»	1 à 2 g.	»	»
1	»	»	»	»	2 à 3 g.	»	»
6	»	»	»	»	3 à 4 g.	»	»
3	»	»	»	»	4 à 5 g.	»	»
9	»	»	»	»	5 à 6 g.	»	»
3	»	»	»	»	27 à 31 g.	»	»

Maheu fait observer que les différentes marques se classent dans différentes catégories suivant leur ancienneté.

Pour les milieux liquides, en dehors des cultures stériles: Maheu a trouvé :

9 échantillons donnant plus de 30 g. d'acide lactique en 48 h.

3	»	»	25 g.	»	»	»
1	»	»	20 g.	»	»	»
3	»	»	15 g.	»	»	»

Il est donc évident que si l'on reconnaît une efficacité quelconque à ces préparations pharmaceutiques, un certain nombre d'entre elles ne répondent pas aux besoins de la pratique médicale.

CHAPITRE VI

Exposé de nos recherches personnelles

Nous nous étions tout d'abord proposé de rechercher l'activité *in vivo* des différentes préparations lactiques du commerce au moyen d'une technique simple d'exécution facile et rapide. Il résultait, en effet de la documentation que nous avons faite, qu'il ne servait de rien qu'un ferment soit capable de fournir *in vitro* la quantité d'acide lactique par litre, que les différents auteurs qui se sont occupés de la question sont d'accord pour exiger des préparations commerciales (10 g. pour les bouillons, 4 à 5 g. pour les comprimés), si l'on n'était pas certain qu'il eût *in vivo* une activité quelconque.

Jusqu'à maintenant tous les auteurs ont recherché l'acclimatation des ferments dans le conduit intestinal par la technique desensemencements sur plaques permettant l'identification et la numération des colonies. Les résultats ainsi obtenus n'ont cependant pas été à l'abri des discussions, puisque les différents auteurs ont pu s'accuser réciproquement d'avoir pris un germe pour l'autre.

Au fond qu'importe-il de savoir ? Si l'ingestion de telle préparation lactique modifie au bout d'un certain temps la composition de la flore fécale ? Il nous a semblé qu'un moyen simple de répondre à cette question, était de mesurer le le pouvoir fermentatif des selles ensemencées dans un milieu de choix pour les ferments lactiques, le bouillon de touraillon par exemple, sans nous soucier d'identifier le germe ayant traversé. Un tel dosage pratiqué pendant les quelques

jours précédant la première ingestion de ferments et pendant les jours qui suivent, devait permettre de noter soit une augmentation du pouvoir fermentatif des selles, preuve de l'acclimatation ou, tout au moins, de la survie dans l'intestin du ferment ingéré, soit aucune modification sensible, preuve de son impuissance à traverser vivant le tube digestif.

Rien ne valant l'expérimentation sur l'Homme, quand elle est possible, nous résolûmes d'être nous-même le sujet de nos expériences.

Les premières constatations que nous fîmes nous engagèrent à modifier la nature de nos recherches. Nous fûmes en effet étonné du pouvoir très élevé de fermentation, d'une quantité infime de matières fécales (un trentième de centimètre cube d'une dilution au dixième, soit 3 milligrammes 3 de selles fraîches). Il n'était pas indifférent de constater que le contenu intestinal possédât un pouvoir fermentatif si élevé, et de nouvelles recherches s'imposaient pour établir le caractère général de cette observation, susceptible de faire délaisser les errements actuellement suivis en Thérapeutique, et d'apporter une orientation nouvelle à la Bactériothérapie lactique.

Nous décidâmes alors de mesurer le pouvoir fermentatif d'un grand nombre de selles que M. le Docteur Goiffon nous proposa de nous fournir. Parallèlement à cette recherche, nous avons procédé à l'analyse chimique de chacune des selles examinées, dosant les acides organiques totaux, l'ammoniaque, et déterminant la concentration en ions H (pH).

La méthode de Goiffon et Nepveux permet le dosage des acides organiques et de l'ammoniaque sur une même prise d'essai. Voici comment on opère

On pèse dans un mortier 10 g. de selles que l'on triture avec le plus grand soin avec environ 50 cc. d'eau ajoutée progressivement, et on verse la dilution obtenue dans une éprouvette graduée à 100 cc. On reprend ce qui reste sur le mortier et le pilon avec un peu d'eau que l'on verse à nouveau dans l'éprouvette. Finalement on complète à 100 cc.

La dilution fécale au dixième ainsi obtenue est transvasée dans un verre à pied. On y ajoute 1 cc. de solution concentrée de chlorure d'aluminium, quelques gouttes de phénolphtaléine et enfin de la chaux hydratée pulvérisée en quantité suffisante pour obtenir par agitation le virage au rouge. On attend 5 minutes et on filtre.

Sur une première portion du filtrat (25 cc.), on titre les acides organiques, après retour à la neutralité, comme il a été dit plus haut (p. 44). Le chiffre trouvé, multiplié par 4, représente le volume d'acides organiques en solution décimale contenus dans 10 g. de selles. Les selles normales ont un taux remarquablement fixe de ces acides : de 14 à 16 cc.

Sur une deuxième portion du filtrat (25 cc.) on dose l'ammoniaque. A cet effet, et après avoir exactement neutralisé comme précédemment, on ajoute 5 cc. de Formol du commerce au demi et neutralisé en présence de phénolphthaléine, et on titre à la soude décimale l'acidité qui s'est développée. Le volume lu sur la burette, multiplié par 4 donne la valeur d'ammoniaque en centimètres cubes de solution décimale pour 10 g. de selles. Le taux moyen oscille autour de 4 cc.

La détermination de l'acidité ionique doit être effectuée sur les selles fraîchement émises, exemptes de toute souillure par l'urine. Comme le fait observer Goiffon [103], l'emploi de la méthode colorimétrique de Clark et Lubs est difficile, car il est pratiquement impossible de filtrer une dilution fécale aqueuse à 10 p. 100 taux de dilution qu'on ne peut guère dépasser, les selles étant assez pauvres en tampon — et une dilution alcoolique est trop colorée pour se prêter à une comparaison. Mais on peut faire une mesure au moins approximative en barbouillant de selles le fond d'une capsule de porcelaine, et en y déposant une goutte du colorant choisi (le Rouge de Méthyle, qui vire de 4,4 à 6,0 et le Bleu de Bromothymol, qui vire de 6,0 à 7,6 suffisent en pratique).

Pour la mesure du pouvoir fermentatif des selles, voici comment nous opérons : on ensemence une goutte (obtenue avec une pipette donnant XXX gouttes au centimètre cube) d'une dilution fécale au dixième, dans 100 cc. de bouillon de touraillon carbonaté. On place dans l'étuve à 37°5, la température normale de l'intestin variant entre 37°2 et 37°6 ; on laisse 24 heures en prenant soin d'agiter de temps en temps, toutes les 3 ou 4 heures, pour faciliter la dissolution de la chaux.

Dans plusieurs séries d'expériences, nous avons fait varier d'une part, la quantité de selles ensemencées, d'autre part, le temps de culture. Nous avons pu observer que l'aci-

dification n'était pas augmentée par un ensemencement plus abondant. Les résultats sont sensiblement les mêmes que l'inoculation soit faite avec un dixième ou un trentième de cc. de la dilution au dixième. La différence maximum observée a été de un dixième dans le sens de l'augmentation, mais comme d'autre part, nous avons pu noter également une différence de même grandeur et de sens contraire, il est vraisemblable que ces différences doivent être mises sur le compte « des irrégularités de la fermentation lactique », qui ont été observées par tous les auteurs. « Lorsqu'on répartit, par quantités égales, dans une série de tubes semblables, toutes conditions d'ensemencement et de température étant aussi identiques que possible, le même liquide de culture, et que l'on détermine, au bout du même temps, l'activité de la fermentation dans ces différents tubes, on constate toujours entre ceux-ci des différences plus ou moins marquées » (Cardot et Richet [53]). Ces irrégularités qui ont été attribuées, en fin de compte, à une propriété des micro-organismes, ne sont dues, d'après Lumière, qu'au manque de précision de la technique, difficile, qui « comporte des conditions expérimentales complexes et délicates, et qui réclame des précautions que l'on n'est pas habitué à prendre en microbiologie, parce qu'elles exigent des mesures et des dosages relevant plutôt du domaine de la physique et de la chimie que de celui de la biologie » [200]. Nous avons observé les principales recommandations faites par Lumière : répartition égale du bouillon dans des ballons de même calibre, traités au préalable par l'acide chlorhydrique à 25 p. 100 et séchés à l'étuve après plusieurs lavages dont le dernier à l'eau distillée, sans parvenir à éviter complètement ces irrégularités qui, dans le cas particulier de nos expériences, peuvent être attribuées pour une part à la complexité de la semence.

En ce qui concerne le temps de culture, nous avons observé de grosses variations selon que la mesure de l'activité de la fermentation était faite après 20 heures ou après 24 heures. Alors qu'avec certains échantillons de selles, l'acidité totale n'augmentait que peu de 20 à 24 heures, dans d'autres cas, sa valeur doublait. Le tableau ci-contre dans lequel les résultats sont exprimés en centimètres cubes d'acide normal par litre de bouillon, fournit quelques exemples de ces variations.

N°	Après 20 heures			Après 24 heures		
	Acidité totale	Dosage à pH 4	Indice	Acidité totale	Dosage à pH 4	Indice pour 100
14	170	90	52	190	94	49
27	324	164	50	392	191	49
29	314	148	47	348	150	43
15	214	126	58	436	276	63
36	252	169	67	414	274	66
28	240	136	56	468	246	52

On remarquera que d'une manière générale - seul le n° 15 fait exception - l'indice est abaissé de 20 à 24 heures, ce qui prouve que pendant ce laps de temps la production d'acide lactique l'emporte sur celle des acides faibles.

Si on effectue les dosages d'une part, après 24 heures et d'autre part après 48 heures de fermentation, on observe qu'en général l'acidité totale s'élève peu pendant la 2^e période de 24 heures alors que l'indice différentiel augmente, ce qui prouve qu'une partie de l'acide lactique formé pendant les premières 24 heures est ensuite consommée par les microbes présents dans le bouillon. C'est ce que montre le tableau ci-après qui comporte cependant quelques exceptions (Échantillons de I à L).

Désignation	Après 24 heures			Après 48 heures		
	Acidité totale	Dosage à pH 4	Indice	Acidité totale	Dosage à pH 4	Indice pour 100
A	262	148	56	290	186	64
B	242	140	57	242	144	59
C	254	164	64	286	204	71
D	250	164	65	278	196	70
E	234	154	65	236	168	71
F	274	118	43	290	134	46
G	274	126	45	270	186	68
H	298	218	73	306	222	75
I	246	140	56	318	168	52
J	270	124	45	278	124	44
K	270	142	52	352	182	51
L	442	276	62	640	378	59

Si on laisse la fermentation se continuer plus longtemps, et par suite de la destruction d'une quantité relativement grande d'acide lactique, on peut alors observer une diminution de l'acidité totale, l'acidité à pH 4 étant également abaissée. C'est ainsi qu'après 3 jours nous avons pu noter les chiffres suivants :

Echantillon	M	272	236	86 p. 100
—	N	500	326	65 p. 100

alors qu'après 24 heures nous avons trouvé :

Echantillon	M	312	210	67 p. 100
—	N	434	298	68 p. 100

La conclusion à tirer de ces expériences est que la mesure du pouvoir fermentatif des sèlles doit être effectuée après 24 heures de culture. Dans le cas où l'on ne pourrait

faire les dosages immédiatement après ce laps de temps, on peut arrêter la fermentation dans les ballons en les plongeant 10 minutes dans l'eau bouillante.

Nous avons examiné plus de cent échantillons de selles provenant d'individus différents. Nous reproduisons dans le tableau ci-contre les résultats obtenus pour 35 d'entre eux choisis parmi les plus significatifs et parmi les plus fréquemment rencontrés. Dans les 4 premières colonnes, qui suivent l'indication de la référence, sont portés les résultats des dosages pratiqués sur la selle (acidité totale et ammoniacale, en centimètres cubes d'acide normal pour 100 g ; pH) et la réaction de la selle au tournesol ; les 3 dernières se rapportent à la culture les résultats sont exprimés en centimètres cubes d'acide normal par litre de bouillon.

N°	SELLES				CULTURE		
	Acidité Totale	NH	pH	Réaction au Tournesol	Acidité Totale	Dosage à pH4	Indice pour 100
1	20,4	5,2	6,2	Acide	443	261	58
2	28	3,6	6,2	Acide	432	270	62
3	28	2,8	5,6	Acide	468	198	42
4	24,3	4,4	6,2	Acide	484	202	41,7
5	12,4	1,2	7	Alcaline	294	142	48
6	14	4,6	6,8	Acide	290	124	42
(1) 7	28,8	5,2	5,5	Alcaline	422	205	48
8	24,4	2,8	5,5	Acide	294	250	85
9	15,6	3,2	6,8	Acide	304	200	65
10	32	3	4,7	Acide	440	212	48
11	18,4	6,4	6,6	Acide	258	174	67
12	17,8	4	6,8	Acide	262	144	54
13	28	4	6,3	Acide	212	100	47
14	18,4	4,2	6,9	Amph.	190	94	49
15	18,4	6	6,8	Amph.	436	276	63
16	26,4	4	6,7	Acide	340	194	57
17	28	4	6,1	Acide	358	160	44
18	15,8	6,4	6,8	Amph.	416	220	52
19	16	4,8	6,8	Amph.	356	184	51
20	16,4	4,8	6,8	Amph.	412	240	58
21	16,8	2,8	6,7	Amph.	412	262	63
22	12,2	2,8	7	Alcaline	380	178	46
23	24	5,4	6,1	Acide	412	224	54
24	12,8	2,8	7	Alcaline	412	206	50
25	18	3,2	7	Amph.	284	140	49
26	14,4	4	7	Alcaline	414	274	66
27	19,8	3,6	6,6	Amph.	392	194	49
28	13,8	3,2	6,8	Amph.	468	246	52
29	15,2	3,8	6,8	Amph.	348	150	43
30	16,8	5,6	6,4	Acide	344	216	62
31	16,4	6,2	6,9	Amph.	212	166	78
32	21,4	4,2	6,6	Acide	346	288	83
33	16,2	3,8	6,8	Amph.	328	218	66
34	40	1,2	4,7	Acide	576	330	57
35	26,8	2	6,8	Acide	456	272	59

(1) Ce cas d'une selle alcaline possédant un taux élevé d'acides organiques n'est pas rare ; il est dû au fait que les acides organiques se sont trouvés neutralisés par les exsudations des glandes intestinales, notamment des glandes du colon descendant et du rectum. Cette neutralisation secondaire *camoufle* l'acidité de la selle (Goiffon).

Quelles premières conclusions pouvons nous tirer de l'examen de ces chiffres ? C'est que, d'abord, toutes les selles renferment des microorganismes capables de fournir aux dépens du lactose une quantité, variable suivant les cas, mais toujours élevée, d'acides. Pour les 35 exemples cités, la moyenne est de 368 cc. d'acide normal par litre de bouillon, le volume de gaz carbonique dégagé aux dépens du carbonate de calcium dépassant 4 litres. Si pour fixer les idées, on exprime les résultats en acide lactique, on voit que la moyenne serait de 33 g. 12 d'acide par litre. Or il est des cas où l'on peut sans grandes chances d'erreur exprimer le résultat en acide lactique ; ce sont les cas où l'indice différentiel est tout à fait voisin de celui de l'acide lactique que nous avons vu être égal à 41, 6. Nous trouvons ainsi :

pour le n° 3	42 g. 12 d'acide lactique	par litre de bouillon				
» 4	43 g. 56	»	»	»	»	»
» 6	26 g. 10	»	»	»	»	»

chiffres qu'il est intéressant de rapprocher des résultats d'analyses, faites par Mabeu, des préparations commerciales de ferments lactiques. La moyenne de ces 3 résultats est de 37 g. 26.

Un calcul simple et curieux montre que si 3 mmg. 3 de selles sont capables de développer une telle acidité, 100 g. des mêmes matières, placées dans les conditions voulues, pourraient fournir 1.129 kg d'acide lactique qui dégageraient 140.450 litres de gaz carbonique aux dépens du CO_3Ca servant à le neutraliser.

Si on examine maintenant l'ensemble des résultats on voit qu'en général, à un taux d'acides organiques élevé et à un pH acide, correspond un pouvoir fermentatif élevé. C'est notamment le cas des n°s 1, 2, 3, 4, 7, 10, 15, 34 et 35. Au contraire à pH 6, 9 ou 7, le taux d'acidité culturale est en général plus faible (n°s 5, 14, 25, 31). Bien que des exceptions dans les deux sens s'observent - cas des n°s 8 et 13 d'une part, et des n°s 22 et 24 d'autre part - il est donc certain que la réaction du contenu intestinal, comme il était aisé de le prévoir, agit aussi bien sur le nombre que sur la qualité des microbes, et, partant, influe sur le pouvoir fermentatif des selles. Donc, la mesure du pouvoir fermentatif renseignera, dans une certaine mesure tout au moins, sur la composition

de la flore intestinale. La détermination de l'indice différentiel donne également des résultats intéressants. On voit, en effet, que dans les nos 3, 4, 6 et 29, il correspond à une production d'acide lactique presque pur alors que dans les nos 8 et 32 il correspond à une production d'acide acétique. Les autres chiffres sont intermédiaires entre ces extrêmes.

Dans deux séries d'expériences, dont l'une portait sur nous-même, nous avons pendant une semaine mesuré chaque jour le pouvoir fermentatif des selles. Nous avons remarqué qu'à l'état normal il restait à peu près constant comme le montrent les tableaux ci-dessous.

PREMIÈRE SÉRIE

Date	Acidité totale	Dosage à pH 4	Indice p. 100
1	442	276	62
2	456	272	59
3	480	292	60
4	474	256	54
5	508	290	57
6	444	256	57

DEUXIÈME SÉRIE

Date	Acidité totale	Dosage à pH 4	Indice p. 100
1	276	162	58
2	306	152	49
3	256	124	48
4	294	140	47
5	278	138	49
6	264	138	52

En résumé, la mesure du pouvoir fermentatif des selles nous paraît susceptible de donner des indications intéressantes quand à l'opportunité d'une médication lactique, et cela dans deux cas différents : premièrement, quand la selle développe une acidité totale insuffisante - secondement, quand l'indice différentiel révèle que cette acidité est due en majeure partie à des acides faibles, entre autres l'acide acétique, dont la présence dans l'intestin n'est certainement pas aussi inoffensive que celle de l'acide lactique, Lesné et Dreyfus ayant prouvé expérimentalement que l'acide acétique injecté dans le rectum y provoque une intoxication.

CHAPITRE VII

De l'influence du régime alimentaire sur la flore intestinale

Notre intestin renferme donc constamment des germes acidogènes, et la quantité d'acide que ceux-ci seraient capables de produire dans certaines conditions est fantastique.

Quels sont ces germes ? Il nous a semblé que, pour le moment, la question n'offrait qu'un intérêt secondaire. Pouvoir y répondre satisferait évidemment l'esprit scientifique toujours avide de savoir et présenterait assurément de l'intérêt, aussi nous proposons-nous de revenir ultérieurement sur cette question. Mais dès aujourd'hui il est permis de faire des hypothèses. *A priori*, la flore bactérienne qui se multiplie dans nos milieux de culture lactosés, doit être constituée, en dehors des bacilles lactiques intestinaux proprement dits : *B. acidophilus*, *B. bifidus*, *B. exilis*, *Str. fecalis*, par des ferments mixtes dont l'activité deviendrait essentiellement saccharolytique dans notre milieu sucré, entre autres le *B. lactis aerogenes* et le *B. coli*. Un colibacille, isolé à partir d'une selle et identifié par ses caractères cultureux, nous a donné, après 24 heures de culture en bouillon de touraillon, une acidité totale égale à 56 cc. d'acide normal par litre avec un indice de 71 p. 100. Nous sommes donc amenés à dire avec Wollmann, que « la meilleure façon de lutter avec un ennemi nombreux et puissant est d'en faire un ami », et « qu'il importe moins d'introduire dans l'intestin des germes utiles que de rendre utiles les germes intestinaux normalement nuisibles ».

Si l'activité fermentative des germes acidogènes est dans l'intestin hors de proportions avec ce que nous observons *in vitro*, cela résulte de l'antagonisme existant entre ces derniers et les bactéries de la putréfaction, antagonisme nécessaire du reste pour la réalisation de l'équilibre acido-basique, que toutes les études de chimie physiologique poursuivies récemment, ont montré être une loi invariable.

Ainsi, lorsque l'efficacité de la bactériothérapie lactique est constatée par la transformation de la flore intestinale, il semblerait *à priori*, que le contenu du gros intestin des patients soumis à cette médication, devrait être très acide. Or, il n'en est rien. Au cours des périodes d'expérimentation où Cheplin et Rettger parvenaient à l'implantation complète du *B. acidophilus* chez l'Homme, ils n'observaient aucun changement dans le pH des fèces. Cannon et Nease ont bien montré que la réaction des matières fécales n'était pas toujours la même que celle du gros intestin ou du cæcum mais, par analogie avec ce qui se passe chez les Rats soumis au même régime, et chez qui les limites de la concentration en ions H du contenu du cæcum et du côlon demeurent essentiellement les mêmes pendant les périodes préliminaires et de transformation des différentes expériences, on peut dire que la transformation de la flore intestinale humaine, du type mixte ordinaire au type simple acidurique, n'a pas pour effet d'augmenter l'acidité du contenu intestinal.

L'organisme sain a tendance à maintenir constant son équilibre acido-basique, non seulement dans le sang et les tissus, mais même dans l'intestin, et pour cela neutralise l'acide au fur et à mesure de sa production. Nous avons vu (p. 58) que cette neutralisation nécessaire était effectuée, en partie, grâce à la flore à activité protéolytique, c'est pourquoi il nous semble que le nom qu'on lui donne de flore de putréfaction, auquel s'attache toujours un sens quelque peu péjoratif, est impropre, et que cette flore mériterait plutôt, tout au moins à l'état normal, celui de flore d'alcalinisation.

Chez l'individu sain donc, l'activité des deux grandes sortes de bactéries se compense harmonieusement, et la fixité de la constitution du contenu intestinal est assurée, ou du moins cette constitution ne varie que dans des limites extrêmement étroites. Que l'équilibre acido-basique vienne à être rompu, que dans l'acte universel de concurrence vitale, une des flores l'emporte en devenant nocive, les troubles intesti-

naux apparaissent. Pour les faire cesser, il faut revenir à l'équilibre primitif et pour cela, lutter contre la flore qui a pris le dessus en favorisant l'autre.

Nous n'envisagerons ici que le cas où c'est la flore d'alcalinisation, à qui nous pourrions alors redonner le nom de flore de putréfaction, qui l'a emporté.

Le pH des selles, normalement aux environs de 6, 8, ne dépasse pas 7, 1. La valeur la plus élevée que nous ayons rencontrée dans nos expériences a été de 7, 0 et, bien qu'alors les microbes protéolytiques soient les éléments dominants de la flore microbienne, nous avons vu que le contenu intestinal était encore capable de fournir *in vitro* de grandes quantités d'acides. Il pourrait les produire dans l'intestin, ou tout au moins la flore acidophile pourrait redevenir prédominante, si l'on fournissait à ses éléments une nourriture convenable, c'est-à-dire hydrocarbonée, et si l'on diminuait d'autant la ration protéique permettant à la flore alcalinisante d'accomplir ses processus de décomposition. Autrement dit, le régime alimentaire rétablira l'équilibre acido-basique.

La possibilité de favoriser l'une des espèces bactériennes aux dépens de l'autre, en modifiant le régime alimentaire, a été signalée par de nombreux auteurs qui ont démontré qu'un régime riche en sucres favorise la flore acidophile aux dépens de la flore protéolytique, alors qu'au contraire, un régime carné a pour effet un développement considérable des microbes de la putréfaction.

Dès 1906, Moro, confirmé en 1912 par Jacobson [142], avait trouvé qu'en ajoutant simplement au régime, du lait de femme cru ou stérilisé, on faisait apparaître en 2 à 3 jours le *B. bifidus* en grande abondance, aussi bien chez les adultes que chez les nourrissons et même les Chiens et les Chats. Il opérait ainsi une désinfection naturelle de l'intestin, plus rapidement et sûrement qu'avec la culture de *Bifidus* qui ne lui avait pas donné de bons résultats.

Puis, Goiffon a montré que l'on pouvait modifier du tout au tout la flore protéolytique du Chien, et la changer en une flore où domine le *B. acidophilus*, en lui supprimant la viande et en lui faisant ingérer du pain et une dose suffisante de lactose.

De même, alors que la flore normale de l'intestin de Souris, nourries avec du pain et du lait, comprend principalement le *B. acidophilus* et le *B. bifidus*, dépassant dans le

rapport de 25 à 1 le *B. coli*, le *B. acidi lactici* et le *B. coli communior*, les souris nourries avec de la viande ont une flore intestinale à *B. diffusus* et *B. welchii*.

Cheplin et Rettger [59] ont particulièrement bien étudié l'action des sucres sur la flore intestinale des Rats blancs. Ils ont montré qu'avec 2 g. par jour de lactose ou de dextrine la flore de ces animaux est profondément modifiée et qu'en 3 à 6 jours le *B. acidophilus* prédomine entièrement. Quelquefois le *B. bifidus* augmente en nombre lui aussi, mais généralement il demeure relativement effacé. Des doses supérieures de lactose stimulent son activité, et avec 3 g. par jour, il arrive à jouer le principal rôle supplantant ainsi même l'*acidophilus*. Avec 1 g. de lactose, ou de dextrine, on n'obtient qu'une transformation partielle qui ne dépasse pas 50 p. 100 de la flore totale.

Expérimentant sur le Chien, Torrey [335] est arrivé à des conclusions identiques.

Le maltose, le saccharose et le glucose, n'exercent aucune influence sur les types de bactéries présents, comme l'avaient déjà montré Distaso et Schiller, Hull et Rettger [138]. Sitley, lui, aurait obtenu les mêmes résultats avec le glucose qu'avec le lactose.

L'explication la plus plausible de cette influence favorable du lactose, réside dans ce fait que, tout au moins chez le Rat, une partie du lactose ingéré échappe à l'absorption caecale et gagne le gros intestin où il fournit aux bactéries acidophiles la possibilité de proliférer.

Passant aux essais sur l'Homme, Cheplin et Rettger ont vu que l'on parvenait à l'implantation complète du *B. acidophilus*, qui prédominerait jusqu'à 90 p. 100 des organismes vivants présents dans les fèces, par l'administration quotidienne de 300 à 400 g. de lactose ou de dextrine, alors que ni le glucose, ni le saccharose, ni le maltose, n'exercent d'influence sur la transformation de la flore ; plus rapidement absorbés ces sucres ne parviennent pas jusqu'au côlon.

Guillemot et Szczawinska, dans leur étude sur les gastro-entérites infantiles, ont pu constater qu'à la suite d'un régime basé sur l'emploi de diètes successives et prolongées à l'eau bouillie et au bouillon de légumes de Méry, suivie d'une réalimentation progressive à l'aide d'aliments très digestibles (lait maternisé, babeurre, bouillies maltées, lait cru, lait caillé) on peut voir se produire la repullulation du *B. bifidus* allant jusqu'à donner l'image exacte d'une selle d'enfant au sein.

D'après ces observations, la diététique à elle seule est donc une condition nécessaire et suffisante pour obtenir l'amélioration du microbisme intestinal, et il paraît, dès lors, tout au moins superflu de recourir à l'ensemencement artificiel du tube digestif. Et cela d'autant plus, qu'il a été prouvé que l'ingestion de suspensions *aqueuses*, non seulement de *B. bulgaricus*, et de *B. bifidus*, mais même de *B. acidophilus*, n'apportait aucune modification dans la flore intestinale, et ne diminuait pas non plus la putréfaction intestinale. Ceci n'est pas fait pour nous étonner puisque nous connaissons maintenant le grand pouvoir acidogène du contenu intestinal. Il est évident que les nouveaux ferments lactiques ingérés, qui ne font que s'ajouter à ceux déjà existants, ne peuvent pas agir davantage que ceux-ci si la nourriture n'est pas appropriée. Nous en sommes donc amenés à penser avec Cheplin et Rettger, Wollmann, Bassler et Lutz, que les effets favorables qui ont été attribués au Yoghourt et autres laits fermentés orientaux et aux préparations lactiques, bouillons et comprimés, dans lesquels les ferments lactiques se trouvent bien rarement à l'état vivant, ont été dûs, en réalité, au lactose, permettant la multiplication des germes acidogènes de l'intestin.

L'expérience du régime lactosé a été faite par Distaso et Sugden qui ont vu constamment disparaître des urines les substances considérées depuis Metchnikoff comme toxiques pour l'organisme. Parallèlement, la quantité des sulfates, minéraux s'est toujours montrée plus faible. Des constatations analogues ont été faites par Herter et Kendall.

Il est nécessaire que la quantité de lactose ingérée soit élevée pour qu'après l'absorption qui s'en fait dans le cæcum, il en parvienne encore une quantité suffisante dans le gros intestin pour permettre l'activité des microbes producteurs d'acides. Normalement, la dernière portion de lactose est absorbée dans le côlon ascendant. Avec les grandes quantités de lactose employées par Cheplin et Rettger, il en parvient toujours suffisamment dans le gros intestin ainsi que le prouve la présence de substances réductrices dans les fèces des sujets en expérience.

Metchnikoff et Wollman [214] avaient cherché à créer sur place une source de sucre en introduisant, dans l'intestin d'où ils sont normalement absents (Wollmann [361]), des microbes capables de saccharifier l'amidon. Ils ont, paraît-il, obtenu, de bons résultats en administrant en même temps que des pommes de terre cuites, un microbe isolé de la flore

intestinale du Chien, le *Glycobacter peptolyticus* Wollmann, qui se distingue de l'énorme majorité des microbes amylo-lytiques en ce qu'il n'exerce aucune action protéolytique. Il ne semble pas que les essais dans cette voie aient été poursuivis.

Notons que l'on peut compter aussi sur certains aliments pour maintenir assez longtemps la présence de matières sucrées au cours de la traversée digestive, et il est donc indiqué de les utiliser toutes les fois que l'on voudra conduire les sucres au niveau du gros intestin. D'assez nombreux aliments pourraient être employés dans ce but, mais, parmi eux, les dattes paraissent le mieux convenir à cause de leur grande richesse en substances sucrées, de leur faible teneur en eau, de la texture serrée de leur parenchyme ; après elles, on peut recommander, entre autres, les raisins secs, les figues sèches, les racines comme la carotte et la betterave, possédant tous une teneur en sucres assez élevée (A. Berthelot [30]).

L'ingestion de lactose, déterminant chez les patients une flore intestinale où domine le *B. acidophilus*, peut être préconisée dans tous les cas où l'on admet l'efficacité du ferment lactique. C'est ainsi que le lactose peut être employé comme agent prophylactique des infections colibacillaires et comme auxiliaire dans le traitement des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, et dans la dysenterie. Enfin d'après Cannon et Dragstedt, un régime à base de lactose et de dextrine retarderait, s'il ne pouvait les prévenir, les accidents de toxémie, consécutifs à l'obstruction intestinale aiguë, et qui sont toujours associés à la présence d'une flore protéolytique en amont du siège de l'obstruction.

Si nous nous déclarons partisans de l'ingestion pure et simple de lactose, est-ce à dire que nous devons rejeter complètement l'usage du lait fermenté ? Nous ne le pensons pas. Quoiqu'il en soit, le lait par lui-même demeure toujours un aliment de grande valeur ; il est 4 à 5 fois plus efficace que la viande de bœuf pour la transmission à l'homme du potentiel bromatologique provenant des hydrates de carbone, des graisses et des protéines de l'alimentation, et il l'emporte encore sur la viande par une meilleure distribution des matières minérales (calcium), et une plus grande richesse en vitamines. De plus, le lait acidifié est d'une plus grande digestibilité que le lait ordinaire, du fait qu'il favorise une évacuation rapide de l'estomac et qu'il stimule la sécrétion alcaline du duodenum,

la sécrétion du pancréas et du foie [56 bis]. Enfin, Cheplin et Rettger ont observé que l'implantation la plus rapide du *B. acidophilus* était obtenue avec le Lait acidophile (500 à 1.000 cc. par jour).

Par contre, nous estimons que c'est une erreur d'administrer pour le traitement des affections intestinales, comme le préconisent certains auteurs, de grandes quantités de lait, 3 ou 4 litres et même 6 litres par jour [92], car il ne faut pas oublier que les espèces microbiennes alcalinifiantes trouvent dans la caséine du lait un milieu favorable et que, plus celle-ci se trouvera en abondance, plus la putréfaction intestinale sera intense (1). En outre, d'expériences faites par Labbé et Vitry [185], il ressort que le régime lacté paraît impuissant à faire disparaître l'indoxylurie dite « d'origine intestinale » ; il jouerait au contraire le rôle d'une source régulière d'indoxyle tandis qu'avec un régime végétalien, c'est-à-dire sans lait, ni œufs, l'indoxyle tombe de 0 g. 21 (taux moyen avec une alimentation mixte normale) à 0 g. 04 par 24 heures. De même, les sulfo-conjugés qui forment en moyenne dans les urines 10 p. 100 des sulfates totaux tombent à 6 p. 100 sous l'influence du régime végétalien. Cette différence provient non seulement de ce que les protéines végétales, ainsi qu'une alimentation à base d'amidon, ne provoquent pas, autant que les protéines animales, l'apparition des bactéries protéolytiques, mais aussi de leur plus grande résistance aux diastases microbiennes.

Metchnikoff et Wollmann ont constaté que parmi les végétaux, ce sont les bananes et les pommes de terre qui fournissent le plus de poisons aromatiques (phénols, indol) ; mais si on associe des aliments végétaux riches en sucre (betteraves, carottes, dattes) à ceux qui donnent lieu à une forte production de poisons aromatiques, on diminue celle-ci notablement. Les albumines végétales, si elles sont un peu moins digestibles ont donc le gros agrément de produire souvent un effet antiputride favorisant le développement des microbes acidophiles, supprimant celui des organismes producteurs d'Hydrogène sulfuré et anaérobies sporulés.

(1) Etudiant la putréfaction spontanée de la viande de boucherie et du lait, Tissier, en collaboration avec Martelly et Gasching, a isolé, des produits putrides, les mêmes bactéries, et il a pu se rendre compte que la marche de ces fermentations était sensiblement la même, la constitution chimique et physique des milieux causant seule quelques différences.

CONCLUSIONS

De tout temps, on s'est occupé d'assainir le gros intestin qui, véritable égout collecteur de tous les résidus abandonnés à la suite du travail de la digestion, mérite bien le nom que les Anglais lui donnent : « the cesspool », c'est-à-dire la fosse à fumier.

Les grands lavages intestinaux étaient autrefois le seul moyen auquel les médecins avaient recours pour le « nettoyage de l'organisme » ; mais avec la découverte des microbes, la thérapeutique s'enrichit d'autres procédés.

Dès les premières heures de la vie, notre intestin est envahi par les microbes dont les uns sont utiles, les autres nuisibles. Tissier, puis Metchnikoff, imaginèrent de contrecarrer l'action des microbes putréfiants, causes d'un grand nombre de maladies locales ou générales, par un ensemencement de l'intestin avec des microbes acidifiants, les ferments lactiques. Mais les résultats obtenus dans la pratique ont été bien loin de répondre aux espérances que l'on avait fondées sur leur emploi. La manière de voir de Metchnikoff relative à l'acclimatement, la multiplication et l'antagonisme des bacilles lactiques dans le gros intestin, ne peut plus s'accorder avec les résultats d'une expérimentation rigoureuse, et l'on doit abandonner l'hypothèse d'une pullulation dans le côlon de microbes étrangers à l'intestin. Seule l'ingestion d'un microbe lactique d'origine intestinale, le *Bacillus acidophilus* Moro, semble donner les résultats escomptés.

Mais, si l'on doit considérer avec un certain scepticisme les explications de Metchnikoff sur les mérites du lait aigri employé dans un but thérapeutique, il nous faut cependant accepter le principe fondamental de ses arguments, à savoir qu'une transformation de la flore bactérienne, ayant pour effet de réduire la fermentation putride des déchets alimentaires, est, sans aucun doute, désirable.

Dans le but de rechercher une mesure de l'activité *in vivo* des ferments lactiques ingérés, nous avons fait des ensemencements de selles sur milieu liquide sucré permettant un dosage de l'acidité développée. En opérant à des pH de valeur différente, nous avons pu faire une sorte de dosage fractionné, d'exécution facile et rapide, qui nous a permis d'obtenir un indice qualitatif de la composition du mélange des acides de fermentation ayant pris naissance.

Frappé par la nature des premiers résultats obtenus, et délaissant notre première idée, nous avons appliqué cette technique pour la mesure du pouvoir fermentatif d'un grand nombre de selles. Nous avons trouvé que les variations du pouvoir fermentatif étaient, le plus souvent, fonction du pH des selles et de leur taux d'acides organiques, mais que, dans tous les cas, ce pouvoir était très élevé, ce qui nous permet d'affirmer la présence constante dans l'intestin de nombreux germes à pouvoir acidogène très marqué : ferments lactiques proprement dits et autres ferments mixtes capables d'une forte activité saccharolytique.

La question qui se pose, dès lors, est de savoir s'il est nécessaire de recourir à un ensemencement artificiel du tube digestif ? Il est logique d'admettre que les microbes lactiques ingérés, à supposer que leur acclimatation dans l'intestin soit possible, ne sauraient avoir plus d'efficacité contre la flore putréfiante que les germes acidifiants de l'intestin. Si ceux-ci ne sont pas capables de tenir en échec les germes alcalinifiants, c'est que les conditions de milieu ne sont pas favorables à leur pullulation, c'est que l'aliment indispensable, le sucre, leur fait défaut.

Autrement dit, les modifications bien orientées du régime alimentaire, l'ingestion de lactose ou peut-être son administration par voie anale, nous paraissent un procédé non seulement suffisant, mais encore supérieur à tous les points de vue à l'ingestion microbienne, et capable, mieux que celle-ci, de rectifier la flore et d'en rétablir la composition normale, ainsi que l'ont montré les expériences de l'école nord-américaine.

Mais il ne faut pas oublier qu'il y a, au point de vue de la flore intestinale, deux grands groupes de malades, les putréfiants et les fermentants. Si l'on guérit les premiers par le lactose, on

guérit les seconds, au contraire, par la suppression du lactose, par la viande et par le carbonate de chaux. Il est donc essentiel de ne pas augmenter les fermentations chez ceux qui en ont déjà trop. D'où l'importance d'un diagnostic.

L'examen chimique des selles, et la mesure de leur pouvoir fermentatif, telle que nous l'avons exposée, doivent permettre, selon nous, de donner des indications diagnostiques et servir de guide au traitement diététique.

Vu, bon à imprimer :

Le président de la Thèse,

COUTIÈRE.

Vu :

Le doyen de la Faculté,

P. GUÉRIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	5
INTRODUCTION	7

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — Généralités sur les microbes lactiques.	11
Caractères des microbes lactiques actifs.	13
Classification d'Orla-Jensen.	14
 CHAPITRE II. — La fermentation lactique.	 19
Action sur les hexoses.	20
Action sur les polysaccharides.	22
Nature de l'acidité produite par les ferments lactiques.	23
Marche de la fermentation lactique.	24
Influence de la nature et de la dose de l'azote.	25
» » » du sucre.	26
Influence de la multiplication des microbes.	26
» de la température.	27
» de l'air.	28
» de la réaction du milieu.	28
Vitalité des ferments lactiques.	29
Influence de la dessiccation.	30
» des sels.	31
 CHAPITRE III. — Choix d'un milieu de culture.	 32
Le lait.	32
Préparation du bouillon de touraillon.	33
Milieux pour l'isolement des ferments lactiques.	34

CHAPITRE IV. — Caractérisation et dosage des acides	
de fermentation.	35
Recherche de l'acide lactique.	35
» de l'acide acétique.	37
» de l'acide formique.	37
Dosage de l'acide lactique.	37
Méthodes alcalimétriques.	37
Méthode de Bertrand et Weisweiller.	38
Dosage de l'acide lactique à l'état d'aldéhyde.	39
a) Méthode de Jérusalem.	39
b) » de Von Furth et Charnass.	39
c) » de Sobolewa et Zaleski.	39
d) » de Bellet.	39
e) » de Mendel-Goldscheider.	39
Microméthode de Hansen.	40
Dosage de l'acide lactique après salification.	40
a) Par extraction à l'éther.	40
b) Méthode de Suzuki et Hart.	41
c) » au zinc.	41
d) Dosage de la chaux dissoute.	41
a) Dosage pondéral	42
b) » volumétrique. Méthode	
de Maheu.	42
Méthode employée dans nos recherches.	43

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE I. — La Flore intestinale. Rôle des ferments	
lactiques dans l'intestin.	47
Flore du nourrisson.	51
» des enfants.	52
» de l'adulte.	53
Ferments mixtes et ferments simples.	55
Actions dues aux fermentations.	56
» » aux putréfactions.	58
L'auto-intoxication.	60
La théorie de Metchnikoff.	61
CHAPITRE II. — Les ferments utilisés en thérapeutique.	
Description des espèces les plus importantes.	64
I) <i>Bacillus lacticus</i> Pasteur.	64
II) » <i>bulgaricus</i> Massol.	65
III) » <i>bifidus</i> Tissier.	69
IV) » <i>acidophilus</i> Moro.	71
V) <i>Streptococcus acidi lactici</i> Grotenfelt.	75

CHAPITRE III. — Les laits fermentés.	77
Lait caillé ordinaire.	78
Képhir.	79
Koumys.	86
Yoghourt.	89
Leben.	95
Gioddu.	98
Mazun.	98
Dadhi.	99
Huslanka.	99
Taette.	100
Lange wei.	100
Skir.	100
CHAPITRE IV. — La Bactériothérapie lactique.	102
Expériences de Tissier, Metchnikoff, Cohendy, etc... avec le <i>Bacillus bulgaricus</i> .	102
L'Ecole nord-américaine et le <i>Bacillus</i> <i>acidophilus</i> .	107
Contre-indications.	116
CHAPITRE V. — Les préparations lactiques du commerce.	118
Bouillons, poudres, comprimés.	119
CHAPITRE VI. — Exposé de nos recherches personnelles.	121
Dosage des acides organiques et de l'ammoniaque des selles.	122
Détermination du pH des selles.	123
Mesure du pouvoir fermentatif des selles.	123
Influence de l'abondance de l'ensemencement.	123
» du temps de culture.	124
Tableau résumant les résultats obtenus pour 35 selles.	128
Commentaires.	129
CHAPITRE VII. — De l'influence du régime alimentaire sur la flore intestinale.	132
L'équilibre acido-basique.	133
Expériences de Cheplin et Rettger, etc..	135
CONCLUSIONS	139
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	145

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ADAM (A) — Ueber die Bedeutung der Eigenwassertoffzahl (des H — Ionenoptimum) der Bakterien. *Centralbl. f. bakt.*, (1), *Orinig.*, 1922, **87**, 481-486.

2. ADAMETZ (L) — *Saccharomyces lactis*, eine neue Milchzucker vergärende Hefeart. *Centralbl. f. bakt.*, 1889, **5**, 116-120.

3. ARKWRIGHT (J.A) — Natural variation of « *B. acidi lactici* » with respect to the production of gas from carbohydrates. *Journ. of Hyg.*, 1913, **13**, 68.

4. ARNAUDI (C), KOPACZEWSKI (W) et ROSNOWSKI (M) — Les antagonismes physico-chimiques des microbes, *C. R. Ac. Sc.*, 1927, **185**, 153.

5. ARNOLD (L.R) — Contribution à l'étude des laits fermentés. Le *Leben*. *Thèse Ec. Sup. Pharm. Montpellier*, 1899, n° 604.

6. ARNOLD (L) — L'influence du lait acidifié sur la fonction duodénale chez les enfants. *Amer. Journ. of Dis. of Child.*, 1926 cité d'après *Le Lait* 1928, **8**, 181.

7. AUBEL (E) — Sur le métabolisme microbien de l'acide lactique et de l'acide pyruvique. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, **176**, 332.

8. AYERS (S.H) — Les streptocoques importants du lait et la relation des types hémolytiques d'origine bovine avec ceux d'origine humaine. *Congrès intern. Laiterie Washington*, 1923 ; cité d'après *Le Lait*, 1925, **5**, 917.

9. AYERS (S.H) et JOHNSON (W.T) — Relation of *Streptococcus fecalis*, to *Streptococcus lactis*. *Studies of the streptococci. Journ. of Inf. Dis.*, 1924, **34**, 49.

10. AYERS (S.H), JOHNSON (W.T) et MUDGE (C.S) — Streptococci of souring milk, with special reference to *Streptococcus lactis*. *Studies of the streptococci. Journ. of Inf. Dis.*, 1924, **34**, 29.

11. AYERS et MUDGE (C.S) — Milk powder Agar for the Determination of Bacteria in Milk. *Journ. of bakt.*, 1920, **5**, 565-588.

12. BACHRACH (E) — Les effets de l'intoxication du bacille lactique par KCl à différentes températures. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, **182**, 1042.

13. BACHRACH (E) et CARDOT (H) — Action des acides sur la marche de la fermentation lactique. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **86**, 583.

14. BACHRACH (E) et CARDOT (H) — Influence de l'acidité initiale et de la concentration du milieu sur la marche de la fermentation lactique. *Ibid.*, 1127.

15. BACHRAT (E) et CARDOT (H) — Sur la propriété de déplacer l'optimum thermique d'un ferment figuré. *Ibid.*, 1926, **95**, 962.

16. BACHRACH (E) et CARDOT (H) — Modifications du bacille lactique sous l'influence du milieu. *Arch. Intern. Physiol.*, 1926, **36**, 155-168.

17. BAKER (J.C) BREW (J.D) CONN (H.J) — Relation entre la quantité d'acide lactique produit et la croissance microbienne lors de l'acidification du lait. *New-York Agricultural Experiment Station, Technical bulletin*, 1919, n° 74 ; cité d'après *Le Lait*, 1921, **1**, 128.

18. BARTHEL (C) — Influence des moisissures sur les ferments lactiques. *Le Lait*, 1924, **4**, 725-731.

19. BARTHEL (C) — Durée de la vie des bactéries lactiques dans le lait additionné de craie et dans la terre. *Le Lait*, 1926, **6**, 32.

20. BARTHEL (C) et SANDBERG (E) — Weitere versuche über das kasein spaltende Vermögen von zur gruppe Streptococcus lactis gehörenden Milchsäurebakterien. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1919, **49**, 392-412.

21. BARY — Le Kéfir. Cité d'après Duclaux, *Traité de Microbiologie*, 1901, **4**, 408.

22. BASSLER (A) et LUTZ (J.R) — Bacillus acidophilus : Its very limited value in intestinal disorders, *Journ. Amer. Med. Assoc*, 1922, **79**, 607-608.

23. BECQUET (M) — Contribution à l'étude de l'action du bacille bulgare sur la flore intestinale. *Thèse, Ec. Sup. Pharm. Paris*, 1914.

24. BÉGUET (M) — Etudes sur l'action thérapeutique des ferments lactiques *Arch. Inst. Past. d'Algérie*, 1925, **3**, 299.

25. BELLET (A) — Nouvelle méthode de dosage de l'acide lactique. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, **74**, 900.

26. BELONOWSKY (G.D) — Ueber die Produkte des Baeterium coli commune in Symbiose mit Milchsäure — bacillen und unter einigen anderen Bedingungen. *Biochem. Zeitschr.*, 1907, **6**, 251-272.

27. BELONOWSKY (G.D) — Sur la prolongation de la vitalité du Bacille bulgare. *C.R. Soc. Biol.*, 1913, **75**, 374-376.

28. BELONOWSKY (J) — Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris. *Ann. Inst. Past.*, 1907, **21**, 991.

29. BENDICK — *Bull. off. inter. Hyg. pub.*, 1915, 1009 cité d'après Bornand (42).

30. BERTHELOT (A) — Sur la vitesse d'absorption des sucres de certains aliments au cours de la digestion. *C. R. Soc. Biol.*, 1910, **68**, 18.

31. BERTHELOT (A) — Antagonisme du Bacille bulgare vis-à-vis du Méningocoque. *Ibid.*, 529.

32. BERTHELOT (A) et BERTRAND (D. M) — Recherches sur la flore intestinale. Isolement d'un microbe capable de produire de la β -imidazol-éthylamine aux dépens de l'histidine *C. R. Ac. Sc.*, 1912, **154**, 1643.

33. BERTHELOT (A) et BERTRAND (D. M) — La nécessité d'un contrôle bactériologique des ferments lactiques pharmaceutiques. *Ann. des Fals.*, 1912, **42**, 164.

34. BERTRAND (G) et DUCHACEK (F) — Action du ferment bulgare sur les principaux sucres. *Ann. Inst. Past.*, 1909, **23**, 402.

35. BERTRAND (G) et WEISWEILLER (G) — Action du ferment bulgare sur le lait. *Ann. Inst. Past.*, 1906, **20**, 976-990.

36. BEYERINCK — Levures du Képhir. *Arch. néerl. des Sc. ex. et natur.*, 1889, **23**, 428.

37. BEYERINCK — Fermentation lactique dans le lait. *Ibid.*, 1901.

38. BEYERINCK — Sur les ferments lactiques de l'industrie. *Ibid.* 1901,

39. BIENSTOCK — Ueber die Bakterien des Föces. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1884, **8**.

40. BIENSTOCK — Recherches sur la putréfaction. *Ann. Inst. Past.* 1899, **13**, 854.

41. BOLL (M) — Cours de chimie, Chap. IX, p. 70 — Paris. *Dunod et Pinot*, 1918.

42. BORNAND (M) — Considérations sur les préparations desséchées de ferments lactiques et de Blastomycètes. *Schweizerische Apotheker Zeitung*, 1925, **63**, 13-15.

43. BOUCHARD (C. J) — Leçons sur les auto-intoxications dans les maladies. *Paris*, 1887.

44. BOUVET (M) — Sur un essai rapide des poudres de ferments lactiques. *Bull. Sc. Pharm.*, 1913, **20**, 483.

45. BRAQFLADT (H) — The effect of kaolin on the intestinal flora in normal and pathologic conditions. *Journ. of Inf. Dis.*, 1923, **33**, 434.

46. CAHN — Ueber die nach gram farbbaaren Facillen des Sanglingsstuhles *Centralbl f. Bakt.*, 1901, **30**, 721.

47. CALMETTE (A), NÈGRE (L) et BOQUET (A) — Manuel technique de Microbiologie et Sérologie. 2^e. Paris. Masson., 1926, 79.

48. CANNON (P. R) — The effects of diet on the intestinal flora. *Journ of Inf. Dis.*, 1921, **29**, 369.

49. CANNON (P.R) et MC NEASE (B.W) — Factors controlling intestinal bacteria. The influence of Hydrogen-ion concentration on bacterial types. *Journ. of Inf. Dis.*, 1923, **32**, 175.

50. CARBONE (D) — Les ferments lactiques et leur contrôle. *Boll. Chim. Farm.*, 1926, **65**, 388 et 486 ; cité d'après *Journ. Pharm. et Chim.*, 1928, **7**, 126.

51. CARDOT (H) et LAUGIER (H) — Action de fortes concentrations salines sur le bacille lactique. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **86**, 108.

52. CARDOT (H) — Adaptation, transmission des caractères acquis, sélection par concurrence vitale chez le ferment lactique. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, **176**, 1087.

53. CARDOT (H) et RICHET (CH.) — Héritéité, accoutumance et variabilité dans la fermentation lactique. *Ann. Inst. Past.*, 1919, **33**, 575-615.

54. CARNOT (P) et BONDOUY (H) — Etat de la digestion au niveau du cæcum. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, **81**, 487.

55. CARRIÈRE (G) — Sur quelques cas d'entérite dus à l'usage des ferments lactiques. *Bull. Soc. de Thérap.*, 14 fév. 1912.

56. CARRION et SOREL — Sur la possibilité d'obtenir le ferment lactique desséché et vivant. *Bull. Soc. de Thérap.*, 13 mars 1912.

56 bis. CASSIE (E) et COX (U) — The examination of the gastric contents in infants, with some considerations as to the value of lactic acid milk in infant feeding. *The Lancet*, 1926, **211**, 322-325.

57. CHATTERJEE (G.C) — A new lactic acid producing Streptothrix, found in the fermented milk of India, called the Dadhi. *Centralbl. f. bakt.*, (1), *Origin.*, 1910, **53**, 103-112.

58. CHEPLIN (H.A) FULMER (H.C) et BARNEY (C.O) — Studies on the therapeutic application of *Bacillus acidophilus* milk. *Journ. Amer. med. Assoc.*, 1923, **80**, 1896-1899.

59. CHEPLIN (H.A) et RETTGER (L. F) — Studies on the Transformation of the Intestinal Flora, with Special Reference to the Implantation of *Bacillus Acidophilus*. I. Feeding Experiments with Albino Rats. II. Feeding Experiments on man. *Proc. of the Nat. Acad. of Sc.*, 1920, **6**, 423-426 et 704-705.

A Treatise on the Transformation of the Intestinal Flora, with Special Reference to the Implantation of *Bacillus Acidophilus*. New-Haven, Conn., Yale University Press. 1921.

60. CHEPLIN (H.A) et RETTGER (L. F) — Implantation of *Bacillus Acidophilus* *Proc. of the Soc. for Exper. Biol. and Med.*, 1920, **17**, 192.

Further studies on intestinal implantation of *Bacillus Acidophilus*. *Ibid.*, 1920, **18**, 30.

61. CHÈPLIN (H. A) et WISEMAN (J. I) — Observations on the Effect of *Bacillus Acidophilus* upon Cases of Chronic Constipation. *Boston M. and S. J.*, 1921, **185**, 637.

62. COHENDY (M) — Essais d'acclimatation microbienne persistante dans la cavité intestinale. Délimitation du siège probable de cette acclimatation *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 364.

63. COHENDY (M) — Aperçus sur la morphologie de la flore intestinale de l'Homme. Nombre respectif de anaérobies et des facultatifs dans les selles. *Ibid.*, 415.
64. COHENDY (M) — Description d'un ferment lactique puissant capable de s'acclimater dans l'intestin de l'Homme. *Ibid.*, 558.
65. COHENDY (M) — De la désinfection intestinale obtenue, sans régime spécial, par l'acclimatation d'un ferment lactique dans le gros intestin. *Ibid.*, 602.
66. COHENDY (M) — Essai de traitement de l'entérite muco-membraneuse aiguë par l'acclimatation d'un ferment lactique dans l'intestin. *Ibid.*, 872.
67. CONRADI et KUPRJUWEIT — *Münch med. Woch.*, 1905, n° 37, 45, 46.
- 67 bis. COURCOUX et GODEL. — *Presse médicale*, 1927, 449.
68. CURRIE (J.N) — A study of the optical forms of lactic acid produced by pure cultures of *Bacillus bulgaricus*. *Journ. of Biol. Chem.*, 1911, **10**, 201-211.
69. CYBULSKI et TARCHANOFF — A propos des poisons normaux de l'intestin. *Arch. intern. Physiol.*, 1907-257.
70. CZAPLEWSKI — Zur Bakteriologie der Ruhr. *Centralbl. f. bakt.*, (1), 1921, **85**, 105.
71. DARBOIS (P) — Résistance du *Micrococcus melitensis* pendant la fermentation lactique dans le laitage. *C. R. Soc. Biol.*, 1911, **70**, 102.
72. DEBAINS (E) — Modification provoquée de la flore intestinale. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 691.
73. DENIGÈS (G) — Précis de Chimie Analytique. 5^e. Paris. Maloine. 1930
74. DE SANDRO — Sugli amilo batteri dell'intestino umano sul bacillo oxalatigenus n. sp. *Rendiconti d. Soc. Chim. Ital*, 1912, fac. IX. ; cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1913, **11**, 63.
75. DISTASO (A) — Sur l'adaptation des microbes étrangers dans la flore intestinale. *C. R. Soc. Biol.*, 1912, **72**, 745.
76. DISTASO (A) et SCHILLER (J) — Sur la transformation de la flore intestinale. *C. R. Soc. Biol*, 1914, **76**, 179.
77. DISTASO (A) et SCHILLER (J) — Sur l'acclimatation dans le gros intestin de microbes étrangers à la flore intestinale. *Ibid.*, 243.
78. DISTASO (A) et SUGDEN (I.H) — Enterointoxication. Its causes and treatment. *Biochem. Journ.*, 1919, **13**, 153.
79. DORLENCOURT et PAYCHÈRE — La molécule albuminoïde dans le babeurre, ses modifications, sa digestibilité. *Soc. de Pédiatrie de Paris*, 15 Juin 1920.
80. DOUMER (E) — Sur l'amidon paraffiné. *C. R. Soc. Biol.*, 1919, **82**, 443.
81. DRAGSTEDT (L.R) CANNON (P.R) et DRAGSTEDT (C.A) — Intestinal obstruction, A study of the influence of the bacterial flora on the

toxemia of acute obstruction. *Journ. of. Inf. Dis.*, 1920, **27**, 139.

82. — Factors controlling the intestinal bacteria. The effect of acute obstruction and stasis on bacterial type. *Ibid.*, 1922, **31**, 209.

83. DRATCHINSKY (S) — Contribution à l'étude de l'influence de l'indol sur les scléroses. *Ann. Inst. Past*, 1912, **26**, 401.

84. DREYFUS (S) — Sur la flore intestinale des enfants soumis à l'alimentation mixte. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **93**, 1566.

85. DUCLAUX (E) — Sur le dosage des alcools et des acides volatils. *Ann. Inst. Past.*, 1895, **9**, 265.

86. EFFRONT — *Moniteur scientifique de Quesneville*. 1911, 489 ; cité d'après *Maheu* [202].

87. ESCHERICH — Epidemisch auftretende Brechdurchfälle in Säuglingsspitälern *Jahrb. f. Kinderh.*, 1900, **52**, 1.

88. FALLOISE (A) — Etude des poisons normaux de l'intestin chez l'Homme et des moyens de défense contre ces poisons. *Mém. couronnés de l'Ac. de méd. de Belgique*. 1907, **19**, 89.

89. FICHET (M) — Contribution à l'étude des laits fermentés. Le skir islandais et son bacille. *Arch. Méd. et Pharm. navales*, 1917, **103**, 195-204.

90. FINKELSTEIN (H) — Ueber Saureliebende Bazillen im Säuglingstuhl *Deutsche med. Wochenschr.*, 1906, No 16.

91. FINKELSTEIN (H) — Ueber alimentäre Intoxication im Säuglingsalter. *Jahrb. f. Kinderh.*, 1907, **65**.

92. FISCHER (R.C) — L'usage des laits fermentés et l'alimentation en lait en face de la putréfaction intestinale. *Journ. of Dairy Science*, 1920, **3**, 414 ; cité d'après *Le Lait*, 1921, **1**, 41.

93. FLEURY (P) — Rapport entre l'activité diastasique et la réaction du milieu. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1924, **6**, 536.

94. FOUASSIER (M) — Influence du cuivre sur la fermentation lactique *C. R. Ac. Sc.*, 1923, **176**, 606.

95. FREUDENREICH — *Bacillus caucasicus*. *Saccharomyces Kephir*. Streptocoque a et b du Képhir. *Apotheker Zeitung*, 1897, **12**, 258.

96. FROUIN (A) et PORCHER (Ch) — Sur l'hydrolyse du lactose dans l'intestin. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **61**, 100.

97. GABATHULER (A) — Ein Beitrag für Yoghurtkontrolle. *Centralbl. f. bakt.*, (2), 1914, **41**, 270.

98. GAING (E) — Lait acide hypergras. *Jahrb. f. kindh.*, 1922, **14**.

99. GALT (H.M) et ILES (C.C) — A study of the Boas-Oppler bacillus. *Journ. of. path. and bact.*, 1914, **19**, 239.

100. GERDA TROILI-PETERSSON — Studien über saure Milch und Zahmilch. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1899, **32**, 361.

101. GINZBERG (A.S) — Die chemischen Vorgänge bei der Kumys und Kefirgarung. I. Untersuchungen über Steppenkumys. II. Ueber künstlichen Kumys und über Kefir. *Biochem. Zeitschr.*, 1910, **31**, 1-24 et 25-38.

102. GISMONDI (A) — La dextrose dans l'alimentation des nourrissons. *La Pediatria*, 1921, **29**, No 6 ; cité d'après *Le Lait*, 1921, **1**, 426.

103. GOIFFON (R) — Manuel de Coprologie Clinique. 2^e Paris. Masson. 1925.

104. GOIFFON (R) et BLASKO (R) — Les selles d'apparence normale des tuberculeux pulmonaires. Rapport entre leur composition et l'équilibre acide-base urinaire. *Revue de la Tuberculose*, 1930, **52**, 863-872.

104 bis. GOIFFON (R) et DONY (E) — Essai de statistique coprologique. *Arch. des Mal. de l'App. digestif*, 1926, **16**, 959-964.

105. GOIFFON (R) et NEPVEUX (F.) — Latitration des acides organiques dans l'urine. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **86**, 1132.

106. GOIFFON (R) et NEPVEUX (F) — Appréciation comparative de la concentration des acides organiques forts ou faibles dans une solution. *Ibid.* 1922 **87**, 1107. — L'indice différentiel de dissociation des acides organiques. Son application aux jus de fruits et boissons, son interprétation *Ibid.*, 1109.

107. GOMPERTZ (L.M) et VOSHAUS (M.G) — Observations on *B. acidophilus*: Its Bacteriological Characteristics and Possible Therapeutic Significance. *Medical Record*, 1921, **100**, 497-499.

108. GOMPERTZ (L.M) et VORHAUS (M G) — Bacteriological and Clinical Expérience with *Bacillus acidophilus*. *Jour. amer. med. Assoc*, 1923, **80**, 90-92.

109. GORINI (C) — Recherches sur les ferments lactiques. *Le Lait*, 1921, **1**, 57.

110. GORINI (C) — Mutation de ferments lactiques par divergences individuelles. *Ibid.*, 1922, **2**, 2.

111. GORINI (C) — Le rôle des ferments lactiques dans la maturation du fromage. *Congrès Intern. de laiterie*, Oct. 1923 ; cité d'après le *Le Lait*, 1924, **4**, 303.

112. GORINI (C) — Sur le mécanisme de la coagulation du lait produite par les bactéries. *Pathologica*, 1^{er} janvier 1924 ; cité d'après *Le Lait*, 1925, **5**, 443.

113. GORINI (C.) — Action des streptocoques sur le lait *C. R. Ac. Scs.*, 1926, **182**, 946.

114. GORINI (C) — Sur les streptocoques acidoprotéolytiques *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **95** 79.

115. GORINI (C) — Stimulation des activités bactériennes dans le lait. *C. R. Ac. Sc.*, 1926, **183**, 250.

116. GORINI (C) — Lait dysgénésiques. *Ibid.*, 1927, **185**, 970.

117. GOTTSCHALK (A) — Methylglyoxalase und Co-Zymase. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1928, **176**, 314.
118. GOY (P) — Les végétaux inférieurs et les facteurs accessoires de croissance. *C. R. Ac. Sc.*, 1921, **172**, 242.
119. GOY (P) — Action du filtrat de *Mucor* sur le développement des cultures microbiennes. *C. R. Soc. Biol.* 1922, **87**, 1007.
120. GRIMBERT — *Bull. Soc. de Pharm de Paris*. 9 juin 1909 ; cité d'après *Maheu* [202].
121. GRIMM (M) — Die Hauptphasen der Milchsäuregärung und ihre praktische Bedeutung. *Centralbl. f. bakt.*, (2), 1911, **32**, 65-70.
122. GRIXONI (B) — Nuovo latte fermentato, facile a prepararsi nei servizi ospedalieri, il gioddu. *Ann. di Med. navale*, 1905, **2**, f. 3 ; cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1906, **4**, 21.
123. GRUNDZACH — *Zeits. f. Klin. Med.*, 1893, **70**.
124. GUERBET (M) — Nouvelle méthode de séparation et de dosage des acides lactique et succinique. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 168.
125. GUERBET (M) — Notes sur la fermentation du Yoghourt. *Ibid.*, 495.
126. GUILLEMOT (M.L) et SZCZAWINSKA (W) — Influence du régime sur le microbisme intestinal au cours des gastro-entérites infantiles. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 726.
127. GUITTONNEAU (G) — Sur un bacille sporulé thermophile fonctionnant comme ferment lactique. *C.R. Ac. Sc.*, 1981, **187**, 69.
128. GUITTONNEAU (G), DELAVAL (H) et M^{lle} BÉJAMBES (M) — Sur une fermentation lactique de certains sucres à la température de 70°. *C. R. Ac. Sc.*, 1930, **191**, 82.
126. HAMMARSTEN — Le Képhir. Cité d'après *Duclaux. Traité de Microbiologie*, 1901, **4**, 403.
130. HANSEN (K.) — Microméthode pour le dosage de l'acide lactique *Journ. Pharm. et Chim.*, 1926, **3**, 478.
131. HENNEBERG — Yoghurt und seine Bereitung. *Inst. f. Garungsgewerbe Berlin* ; cité d'après *Bornand* [42].
132. HENNEBERG — Trochene oder flussige Yoghurtpreparate. *Tageszeitung f. Brauerei*, 1911, 1751 ; cité d'après *Maheu* [292].
133. HERTER (C.A) et KENDALL (A.J) — The influence of dietary alternations on the types of intestinal flora, *Journ. of. Biol. Chem.*, 1909, **7**, 203-236.
134. HINES (L.E) — Intestinal flora in diarrhea. *Journ. of. Inf. Dis.*, 1923, **32**, 280.
- 134 bis. HIRSCHLER (A) — Ueber den Einfluss des Kohlehydrate und einigen anderen Körper der Fettsaurereihe auf die Eiweissfaulniss. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1886, **10**, 306-317.

135. HOFMANN (K.A.) — Tiennung und Nachweis der Milchsäure als Komplexes Eisen (3). Natriumlactat *Ber. d. deutsch. chem. ges.*, 1920, **53**, 2.224 ; Cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1921, **19**, 352.

136. HOLWERDA (B.J.) — Ueber den Einfluss der Milchsäure auf die Milchsäuregärung. *Biochem. Zeitschr.*, 1922, **128**, 465.

137. HUCKER (G.J.) et MARQUARDT (J.C.) — Effet de certains streptocoques producteurs d'acide lactique sur l'arôme du fromage de Cheddar. *Le Lait*, 1926, **6**, 843-850.

138. HULL (Th.G.) et RETTGER (L.F.) — The influence of milk and carbohydrate feeding on the intestinal flora of white rats. *Centralbl. f. Bakt.*, (1). *Origin.*, 1914, **75**, 219.

139. HULL (Th.G.) et RETTGER (L.F.) — The influence of milk and carbohydrate feeding on the character of the intestinal flora. IV. Diet verous Bacterial implantation. *Journ. of Bact.*, 1917, **2**, 47-71.

140. HUSSONG (R.V.) et HAMMER (B.V.) — A thermophile coagulating milk under practical conditions. *Journ. of Bact.*, 1928, **15**, 179.

141. JACOBSON (G.) — Contribution à l'étude de la flore normale des selles du nourrisson. *Ann. Inst. Past.*, 1908, **22**, 300.

142. JACOBSON (G.) — Modification de la flore intestinale du jeune chien alimenté avec du lait de femme. *C. R. Soc. Biol.*, 1909, **67**, 143.

143. JANDIN (J.C.) — Contribution à l'étude du Képhir. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1924.

144. JENSEN (Orla.) — Ueber die Milchsäurebakterien und ihre Identifizierung. *Zeitschr. f. bakteriophysi.*, **5**, 11-16.

145. JENSEN (Orla.) — The Lactic Acid Bacteria. *C. R. Ac. Sc. Copenhagen*, 1919, 2 tomes avec 51 plaques ; d'après *Le Lait*, 1924, **4**, 468.

146. JENSEN (Orla.) — Sur la conservation des bactéries lactiques. *Le Lait*, 1924, **4**, 537.

147. JÉRUSALEM (E.) — Ueber ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure in Organem und tierischen Flüssigkeiten. *Biochem. Zeitschr.*, 1908, **12**, 361-389.

148. JIMENEZ (J.) et ÁZNAR (P.) — Influencia del *B. acidophilus* sobre el poder proteolítico de los bacilos esporogenes y putrificus. *Bol. Soc. Biol. Madrid*, 1923, **10** ; cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 192

149. JIMENEZ (J.) et ÁZNAR (P.) — Las aplicaciones terapeuticas del bacilo acidofilo. *Siglo Medico*, 1924 ; cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1924, **22**, 780.

150. JONES (F.S.) — Streptococci occuring in sour milk. *Journ. of exp. Med.*, 1921, **33**, 13-24.

151. JONES (F.S.) — Les propriétés de la substance bactéricide contenue dans le lait. *Ibid.*, 1928, **47**, 877.

152. JORDANA (V) — Recherches bactériologiques sur la flore intestinale du nourrisson. *Arch. espan. de Pediat.*, 1926, 413 ; cité d'après *Le Lait* 1928, 8, 432.

153. JORGENSEN — Le Képhir. Microorganismen des gasungsindustrie. Baillière, 6e. 1898, 92.

154. JOTTEN (K. W) — Vergleiche zwischen der Vaginal bazillus Doderleins und dem « B. acidophilus » des Sauglingsdarmes. *Arch. f. Hyg.*, 1922, 91, 143.

155. KAGEURA (N) — Einwirkung des Bacteriums lactis aerogenes und des Bacteriums coli auf Hexose-mono-phosphorsaure *Biochem. Zeitschr.*, 1927, 190, 181.

156. KAYSER (E) — Etudes sur la fermentation lactique. *Ann. Inst. Past.*, 1894., 8, 737.

157. KAYSER (E) — La fermentation lactique. *Le Lait*, 1921, 1, 184-191 et 242-249.

158. KENDALL (A. I) — Observations on aciduric (acidophilic) bacteria. *Journ. of Med. Research.*, 1910, 22, 153-167.

159. KENDALL (A. I) — Lactic acid bacilli ; what they are and what they are supposed to do. *Arch. Pediat.*, 1910, 27, 613-621.

160. KENDALL (A. I) et FRIEDEMANN (T. E) — L'emploi du bioxyde de manganèse colloïdal pour le dosage de l'acide lactique. *Journ. of Biol. Chem.*, 1928 78, 61.

161. KENDALL (A. I) et HANER (A. C) — « Bacillus bifidus » LXXI. Studies in bacterial metabolism. *Journ. of Inf. Dis.*, 1924, 35, 77.

162. KERN (I) — « Dispora Caucasica ». *Bull. Soc. Imp. Natur., Moscou.* 1881, 3, 141-177.

163. KERN (I) — Beitrage zurwirkung des Yoghurt. Bacillus (Bacillus Bulgarus) auf den Bacillus coli. *Zeitschr. f. Klin. Med.*, 67, 211.

164. KESSEL (J. F) et HUANG K'E. KANG — L'effet d'un régime consistant en lait seul sur les amibes intestinaux. *Proc. of the Soc. for Exper. Biol. and Med.*, 1926, 23, 388 - 391 ; cité d'après *Le Lait*, 1926, 7, 891.

165. KLEBS (E) — Nouvelles observations sur la durée de vie des bactéries du Yoghourt. *Munch. Wochenschr.*, 1er sept. 1922 ; cité d'après *Le Lait*, 1922, 2, 815.

166. KLEEBERG (J) — Etudes sur le Yoghourt et le Kéfir. Les cultures du commerce. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1926, 28, 321.

167. KLEMPERER (G) — Ioghurtkuren bei Diabetes. *Berlin, Klin. Wochenschr.* 1918, 523-524.

168. KLING (G. A) — Du rôle physiologique joué par le « Bacillus bifidus » dans le canal intestinal. *Ann. Inst. Past.*, 1914, 28, 797.

169. KLOTZ (M) — Zur Bakteriologie des Yoghurts. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1908. 21, 392.

170. KNUDSEN (S) et SOERENSEN (A) — Le lait comme milieu de culture pour certaines bactéries lactiques. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1927, **71**, 500-501.

171. KOPELOFF (N) — *Lactobacillus acidophilus*. Baltimore, Williams and Wilkins ; cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1927, **25**, 180.

172. KOPELOFF (N) — Is the action of *Bacillus acidophilus* a Strictly Bacteriologic Phenomenon ? *Journ. Amer. med. Assoc.*, 1923, **80**, 602-604.

173. KOPELOFF (N) et BEERMANN (Ph) — Modified gram Stains. *Journ. of Infect. Dis.*, 1922, **31**, 480-482.

174. KOPELOFF (N) et BEERMANN (Ph) — Influence de la tension superficielle sur *L. acidophilus* et *L. Bulgaricus*. *Proceed. of the Soc. for Exper. Biol. and Med.*, 1926, **23**, 544 ; cité d'après *Le Lait*, 1928, **8**, 613.

175. KOPELOFF (N) et CHENEY (C.O) — Studies on the Therapeutic Effect of *Bacillus acidophilus* Milk and Lactose. *Journ. Amer. med. Assoc.*, 1922, **79**, 609-611, et, *Proc. of the Soc. for Exper. Biol. and Med.*, 1922, **19**, 372.

176. KOPELOFF (N), LONERGAN (M.P) et BEERMANN (Ph) — Le *Lactobacillus acidophilus* et l'épilepsie. *Proceed of the Soc. for Exper. Biol and Med.*, 1925, **23**, 25 ; cité d'après *Le Lait*, 1928, **8**, 531.

177. KOSTYTSCHEW (S) et AFANASIEWA (M) — Sur la respiration des microbes de la fermentation lactique. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **181**, 61.

178. KOSTYTSCHEW (S) et ELIASBERG (P) — *Journ. de la Soc. botan. de Russie*, 1919, **4**, 25, avec un-résumé en français ; cité d'après *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **181**, 61.

179. KOSTYTSCHEW (S), GWALADSE (W) et ELIASBERG (P) — Bildung von Brenztraubensaure bei der milchsauregarung. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1930, **188**, 127.

180. KOSTYTSCHEW (S) et SOLDATENKOV (S) — Brenztraubensaure und Methylglyoxal als Zwischenprodukte der Milchsäuregarung. *Ibid.*, 1927, **178**, 124.

181. KROHA GEORGE (F) — La production industrielle du lait acidophilus. *The Creamery and Milk Plant Monthly* ; 1925, **14**, 79-80 ; cité d'après *Le Lait*, 1927, **7**, 887.

182. KUFFERATH (H). — Sur le mode d'encencement des ferments lactiques dans les milieux sucrés artificiels employés par l'industrie *C. R. Soc Biol.*, 1920, **83**, 199.

183. KULP (W. L) — Viability of *B. acidophilus* and *B. bulgaricus* in the human intestine. *Journ. Amer. med. Ass.*, 1926, **87**, 833, et, *Journ. of Bact.*, 1929, **17**, 355.

184. LABBÉ (H) GOIFFON et NEPVEUX, — L'indice d'oxidabilité comme test de putréfaction des matières fécales. *C. R. Soc. Biol.*, 1920, **83**, 904.

185. LABBÉ (H) et VITRY (G) — Relations entre le régime lacté et l'indicanurie. *C. R. Soc. Biol.*, 1907, **63**, 677.

186. LABBÉ (H) et VITRY (G) — Influence des ferments lactiques sur et l'absorption des albuminoïdes. *Ibid.*, 1909, **66**, 765.

187. LAGRANGE (E) — La flore intestinale. *Biol. méd.* 1928, **18**, 49.

188. LAUFER (R) et BOURGEOIS (R) — Nouvelle méthode de traitement des entérites par imprégnation de l'intestin avec un milieu électif de sa flore microbienne. *Bull. Soc. de Thérap.*, 1910, **15**, 133.

189. LAUTER — Ueber das Vorkommen des Bacillus bifidus beim Neugeborenen. *Centralbl. f. Bakt.*, 1921, **86**, 578.

190. LAVANDON (R) — Contribution à l'étude des variations du pH des selles des Nourrissons. *Thèse. méd. Paris*. 1928, n° 229.

190 bis. LE NOIR et GOIFFON (R) — *Soc. méd. hôp.*, 1921.

191. LOWA (O) — *Yoghourt Rapport de l'Inst. lactol. de l'Ec. Polytechnique à Prague*, 1918, n° 9 ; cité d'après *Le Lait*, 1921, **1**, 201.

192. LISTER. — On the lactic fermentation and its bearing on pathology. *Transact. of the pathol. Soc. of London*, 1878, **29**.

193. LOEPER (M) — L'élimination calcique intestinale et la coagulation du mucus. *C. R. Soc. Biol.*, 1909, **67**, 173.

194. LOEPER (M) et BÉCHAMP (G) — Variations de la chaux intestinale dans quelques maladies de l'intestin., *C. R. Soc. Biol.*, 1909, **67**, 350.

195. LOEPER (M) et BÉCHAMP (B) — Variations de la chaux dans quelques maladies générales. *Ibid.*, 1910, **68**, 526.

196. LOMRY et GILLET. — Sur l'identification des bacilles pathogènes de l'intestin. *Ann. Inst. Past.* 1927, **41**, 648-667.

197. LESBROS (M) — Accoutumance et anaphylaxie chez les microbes. *Thèse Doct. Sc. Lyon*. 1927.

198. LUERSSEN (A) et KUHN (M) — Yoghurt, die bulgarische Sauermilch. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1908, **20**, 234-248.

199. LUMIÈRE (A) — Contribution à l'étude de la fermentation lactique, et des propriétés des microbes. *Ann. Inst. Past.* 1923, **37**, 967.

200. LUMIÈRE (A) — Sur la variabilité de la fermentation lactique. *Ibid.*, 1924 **38**, 344.

201. MC INTOSH (J), JAMES (W.W) et LAZARUS-BARLOW (P) — The bacterial origin of dental caries. *The Lancet*, 1922, 1183.

202. MAHEU (J) — Essai bactériologique et chimique des Préparations pharmaceutiques dites « Ferments lactiques » *Thèse Méd. Paris*. 1921, et *Le Lait* 1922, **2**, 433.

203. MAKRIKOFF (S) — Zur Frage des Nomenklatur des sogenannten Bacillus Bulgaricus. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1910, **26**, 374-388.

204. MAKRIKOFF (S) — Travaux du laboratoire de bactériologie agricole, 1912,

205. MARSHALL (M. S) — An associative study of *Streptococcus lacticus* and *Bacillus subtilis* in Milk. *Journ. of Dairy Science*, 1920, **3**, 406-413 ; cité d'après *Le Lait*, 1921, **1**, 41.

206. MAZÉ (P) — La fabrication du fromage du Cantal et les moyens de réaliser la pureté de la fermentation lactique qui assure sa maturation normale. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **178**, 729.

207. MAZÉ (P) — La fabrication du Port-Salut et des fromages façon Hollande. *Ibid.*, 893.

208. MAZÉ (P) — De l'influence du pouvoir bactéricide du lait cru sur les ferments lactiques entretenus dans du lait stérilisé et de la sélection empirique des ferments lactiques. *Ibid.*, 1434.

209. MERESHKOWSKY (S. S) — Zur Frage über die Rolle der Mikroorganismen im Darmkanal *Centralbl. f. Bakt.*, (1), *Origin.*, 1905, **39**, 380-389, 584-594 et 696-703, et **40**, 118-125.

210. METCHNIKOFF (E) — Essais sur la nature humaine, 1903.

211. METCHNIKOFF (E) — Essais optimistes, 1907.

212. METCHNIKOFF (E) — Etudes sur la flore intestinale. *Ann. Inst. Past.*, 1908, **22**, 929. — (2^e mémoire) Poisons intestinaux et scléroses. *Ibid* 1910, **24**, 755.

— (3^e mémoire) Toxicité des sulfoconjugués de la série aromatique *Ibid.*, 1913. **27**, 893.

(4^e mémoire) Les diarrhées des nourrissons, *Ibid.*, 1914, **28**, 89.

213. METCHNIKOFF (E) — Microbes et longévité. *La Revue*, 1911, 415 ; cité d'après *Mayeu* [202].

214. METCHNIKOFF (E) et WOLLMAN (E) — Sur quelques essais de désintoxication intestinale. *C. R. Ac. Sc.*, 1912, **154**, 1573, et, *Ann. Inst. Past.* 1912, **26**, 825.

215. METCHNIKOFF (O) Vie d'Elie Metchnikoff (1845-1916), 1 vol. 272 p. petit in-8°, Paris. Hachette.

216. MEYER (R. P) — The effect of hydroxyl in concentration on the thermal death rate of « *Bact. coli* ». *Journ. of. Bact.* 1928, **15**, 341.

217. MORO. — Ueber die nach gram farbbaaren Bacillen des sanglingsstuhles. *Wien Klin. Wochenschr.*, 1900, **13**, 114.

218. MORO — Ueber den *Bacillus acidophilus* *Jahrb. f. Kinderh.*, 1900, **52**, 38.

219. MORRIS (W. H) — The use of *Bacillus acidophilus* milk in a tuberculosis sanatorium. *Journ. Amer. med. Assoc.* 1923, **81**, 93-97.

220. NAUJOKS. — Das vorkommen des *Bacillus acidophilus* bei Schwängern und gebarenden und sein zeitlicher und örtlicher Uebergang auf den neugeborenen, Cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1922, **20**, 557.

221. NEUBERG (C) et GORR (G) — Ueber den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Bakterien. *Biochem. Zeitschr.*, 1925, **162**, 490.

222. NEUBERG (C) et GORR (G) — Ueberführung des Methylglyoxals in Brenztraubensäure. *Ibid.*, 1925, **166**, 442.

223. NEUBERG (C) et GORR (G) — Ueber den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Bakterien. II. *Ibid.*, 482.

224. NEUBERG (C) et GORR (G) — Ueber den Mechanismus der Milchsäurebildung bei Phanerogamen I et II. *Ibid.*, 1926, **171**, et, 1926, 475 **173**, 358.

225. NEUBERG (C) et KOBEL (M) — Ueber die Bildung von reiner d (-) - Milchsäure durch frische Hefen und Trockenhefe sowie von d, l - Milchsäure durch Hefenmazerationssaft. *Biochem. Zeitschr.*, 1927, **182**, 470.

226. NEUBERG (C) et KOBEL (M) — Die Isolierung von Methylglyoxal beider, Milchsäure-garung. *Ibid.*, 1929, **207**, 232.

227. NEUBERG (C) et KOBEL (M) — Weiteres über die Vorgänge bei der desmolytischen Bildung von Methylglyoxal durch Hefe, *Ibid.*, 1929, **210**, 466.

228. NEUBERG (C), NORD (F.F) et WOLFF (E) Acetaldehyd als Zwischensstufe bei der Vergärung von Zucker durch *B. lactis aerogenes* *Biochem. Zeitschr.*, 1920, **112**, 144.

229. NEUBERG (C) et SIMON (E) — Die Verwirklichung der phytochemischen Reduktionen durch Bakterien. *Biochem. Zeitschr.*, 1927, **190**, 226.

230. NEUCKI (M) et PAWLOW (J.P) — *Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol.*, 1897, **38**, 215.

231. NICOLAI et ESSAUOULOFF — Sur le kéfir, recherches bactériologiques et chimiques. *Molkereizeitung*, 1895, 283.

232. NILSSON (R) et SANDBERG (E) — Contribution à l'étude des fermentations calasées par les bactéries lactiques et les levures *Biochem. Zeitschr.*, 1926) **174**, 106.

233. NINNI (G) — Nouvelles conceptions sur le mécanisme d'action de la bactério-thérapeutique lactique. *Gaz. des Hop.*, 1931, 466-470.

234. NOBÉCOURT et RIVET. — *Semaine médicale*, 1907, 517.

235. NORMAN (N. Ph) et EGGSTON (M.D) — Pyogenic Infections of the Digestive Tract and Their Biological Treatment. *New-York Med. Journ.*, 1922, **115**, 449.

236. NORMAN (N.Ph) et EGGSTON (M.D) — Intestinal Infections and Toxemias and their Biological Treatment. *Ibid.*, 1922, **116**, 623-626.

237. OEHLER (R) — Ueber Yoghurtkontrolle. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1911, **30**, 149-154.

238. OLSEN-SOPP (O.J) — Taette, die urnordische Dauermilch und verwandte Milchsorten, sowie ihre Bedeutung für die volksernährung. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1912, **33**, 1-54.

239. ORBAN (R) — Ueber das Vorkommen der Laktase in Deimdarms und in den Säuglingsfläces. *Prager med. Wochenschr.*, 1899, nos 33-35.

240. PALIER — *Bull. Soc. de Thérap.*, 14 oct. 1908.

241. PALIER — *Ibid.*, 10 fév. 1909.
242. PASTEUR — Mémoire sur la fermentation appelée lactique. *Ann. Phys. et Chim.*, (3), **52**, 404.
243. PASTEUR — Recherches sur la putréfaction, *C. R. Ac. Sc.*, 1863 **66**, 1189.
244. PEACOCK (J. C.) — *Bacillus acidophilus* préparations. *Amer. Journ. of Pharm.*, 1925, **97**, 471-476.
245. PEDERSON (C.S) PEDERSON (W.H) et FRED (E.B) — The forms of lactic acid produced by pure and mixed cultures of bacteries. *Journ. of Biol. Chem.*, 1926, **68**, 151.
246. PÉRÉ (A) — Fermentation lactique des corps sucrés par le colibacille du nourrisson, *Ann. Inst. Past.*, 1898, **12**, 63.
247. PELLERIN (G) — Laites fermentés et Babeurre *Bull. Sc. Pharm.*, 1928, **35**, 85.
248. PERGHER (G) — Sul comportamento dei fermenti lattici nell'apparato digerente. *Annali d'Igiene*, 1927, **37**, 729.
249. PETROW (N.P) — Acidophile bakterien im Darmkanal einiger Kaltblüter. *Centralbl. f. Bakt.*, (1), *Orgin*, 1907, **43**, 349-355.
250. POLLALIS — Sur quelques applications thérapeutiques de ferments, lactiques en médecine canine. *Bull. Soc. Path comp.*, 1926 ; cité d'après *Le Lait* 1927, **7**, 482.
251. PORCHER (Ch) — De la présence de la lactase dans les excréments de jeunes mammifères. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 1114.
252. POTTEVIN (H) — Contribution à l'étude de la fermentation lactique. *Ann. Inst. Past.*, 1898, **12**, 49.
253. POUCHET (G) — Comment agissent les ferments lactiques. *Le Siècl Médical*, 23 Juillet 1931.
254. POUCHET (G) et ROGER (E.P) — Sur l'utilisation de l'acide lactyllactique pour réaliser la médication lactique. *Bull. Ac. Méd.*, 1930, **103**, 619-621.
255. PURDIE et WÆKER — Résolution de l'acide lactique en ses composants optiquement actifs. *Journ. of Chem. Soc.*, 1892.
256. RAHE (A.H) — A study of the so-called implantation of the *Bacillus bulgaricus*. *Journ. of Inf Dis.*, 1915, **16**, 210-221.
257. RAZOR (H) — Influence du sucre de lait sur les mouvements péristaltiques de l'intestin grêle. *Jahrb. f. Kinderh.*, 1921, **96**, 23.
258. REFIK BEY — Recherches bactériologiques sur le « Yo-ourt » et le bacille Turc. *Le Lait*, 1925, **5**, 681.
259. RENAUD (M) — Les propriétés thérapeutiques du lacto-sérum. *Bull. Ac. Méd*, 1927, **99**.

RENAUD (M) — Purgations par prises répétées de lacto-sérum. L'application d'un principenouveau. *Ibid.*, 1928, **100**, 854.

RENAUD (M) — L'emploi du lacto-sérum en thérapeutique. *Le Lait* 1930, **10**, 94.

260. RENOUS (Ch) — Etude sur l'emploi du babeurre dans l'alimentation des nouveaux-nés débiles. *Thèse Doct. Méd.* Paris, 1924.

261. RETTGER (L.F) — The influence of milk feeding on mortality and growth, and on the character of the intestinal flora. *Journ. of Exp. Med.*, 1915, **12** 365-388.

262. RETTGER (L.F) — Les bactéries lactiques et spécialement le « *Bacillus acidophilus* » *Congrès intern. Laiterie, Washington*, 1923 ; cité d'après *Le Lait*, 1925, **5**, 916.

263. RETTGER (L.F) et CHEPLIN (H.A) — Therapeutic application fo *Bacillus Acidophilus*. *Proc. of the Soc. for Exper. Biol. and Med.*, 1921, **19**, 72.

264. RETTGER (L.F) et CHEPLIN (H A) — *Bacillus acidophilus* and its therapeutic application. *Arch. Int. Med* , 1922, **29**, 357-367.

265. RETTGER (L.F) et HORTON (G.D) — A comparative study of the intestinal flora of white Rats kept on experimental and ordinary mixed diets. *Centralbl. f. Bakt. (1), Origin.*, 1914, **73**, 362-372.

266. RICHET (Ch) — De l'action des métaux à faible dose sur la fermentation lactique *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 455.

267. RICHET (Ch) — Sur une combinaison de l'acide lactique avec la caséine dans la fermentation lactique. *Ibid.*, 650.

268. RICHET (Ch) — De l'action des dos minuscules de substance sur la fermentation lactique. *Ibid.*, 981.

269. RICHET (Ch), BARDACH (E) et CARDOT (H). — I. L'accoutumance du ferment lactique aux poisons (spécificité, simultanéité, alternance). *C. R. Ac. Sc.*, 1922, **174**, 345. II. Etudes sur la fermentation lactique. Le souvenir chez les microbes. *Ibid.*, 842

270. RICHET (Ch) et BRAUMANN (L) — Action accélérante des sels à dose très faible sur la fermentation. *C. R. Ac. Sc.*, 1929, **188**, 1198.

271. RICHET (Ch) et CARDOT (H) — La fermentation lactique et les écarts de la moyenne. *Ann. Inst. Past* , 1924, **38**, 842.

272. RICHET (Ch) et M^e LE BER. — Etudes sur la fermentation lactique. Action à très faibles doses de substances en apparence inoffensives *C. R. Ac. Sc.*, 1922, **125**, 1021.

273. RIST et KHOURY. — Etude sur un lait fermenté comestible, le *Leben* d'Egypte. *Ann. Inst. Past.*, 1902, **16**, 65 ; *Bull. Soc. Pharm. Paris*, 1902, **5**, 62, et *Journ. de l'Industrie Laitière*, 1903, 134.

274. ROGER (H) — Influence de la bile sur la production des poisons putrides dans l'intestin. *C. R. Soc. Biol.* 1909, **67**, 666.

275. ROGER (H) et GARNIER (M) — Première note sur la toxicité du contenu intestinal. *C. R. Soc. Biol.*, 1905, **59**, 388. Deuxième note. *Ibid.*, 674.

276. ROGER (H) et GARNIER (M) — Influence du régime lacté sur la toxicité du contenu intestinal. *Ibid.*, 677.

277. ROGER (H) et GARNIER (M) — Les poisons du tube digestif. *Revue de Médecine*, Août et Déc. 1905.

278. ROGER (H) et GARNIER (M) — Toxicité des sécrétions duodénales. *C. R. Soc. Biol.*, 1908, **64**, 610.

279. ROGER (H) et GARNIER (M) — Toxicité du contenu duodéal. *Ibid.*, 883.

280. ROGER (H) et GARNIER (M) — Toxicité du contenu de l'intestin grêle ; influence de la putréfaction. *Ibid.*, 1908, **65**, 202.

281. ROGER (H) et GARNIER (M) — Toxicité des matières fécales. *Ibid.*, 389.

282. ROSENTHAL (G) — Recherches sur les bases scientifiques de la Bactériothérapie par les ferments lactiques.
C. R. Soc. Biol., 1909, **67**, 795.

283. — *Ibid.*, 1910, **68**, 94.

284. — *Ibid.*, 349.

285. — *Ibid.*, 762.

286. — *Ibid.*, 1910, **69**, 344.

287. — *Ibid.*, 398.

288. — *Bull. Soc. de Thérap.*, 1910, **15**, 141.

289. ROSENTHAL (G) et CHARAZAIN-WETZEL (P) — Bases scientifiques de la Bactériothérapie par les ferments lactique. *Bull. Soc. de Thérap.*, 23 Juin 1909.

290. ROSENTHAL et CHARAZAIN-WETZEL — *Ibid.*, 27 oct. 1909.

291. — *C. R. Soc. Biol.*, 1910, **68**, 92

292. ROTCH (T.M) et KENDALL (A.J) — A preparatory study of the *B. acidophilus* and regard to its possible Therapeutic use. *Amer. Journ. of Dis. of Child.*, 1911, **3**, 365 - 388.

292 bis. ROVIGHI (A) — Die Aetherschweifelsauren im Harn und die Darm-desinfection *Zeitschr. f. physiol. chem.*, 1892, **16**, 20-46.

293. RUBAY (P) et VAN GOIDSENHOVEN (Ch) — Les ferments lactiques dans le traitement des plaies *Ann. Méd. Vet.*, 1923, 7.

294. RUBINSKY (B) — Studien über den Koumiss. *Centralb. f. bakt.*, (2) 1910, **28**, 161-224.

295. SAGASTUME (C. A) et SOLARI (A) — Action des sucs digestifs sur les ferments lactiques. *C. R. Soc Biol.*, 1927, **97**, 1517.

296. SALGE — Ein Beitrag zur Bakteriologie des Enteroka'arrhs, *Jahrb. f. Kinderh.*, 1904, **59**, 399.

297. SANCHEZ (G) — Sur la flore et les procédés de préparations du kéfir. *Le Lait*, 1924, **4**, 621.

298. SANDBERG (C) — Voir BARTHEL [20]

299. SANSONETTI (Mlle) — Sur les flores bactérienne et fongique des caillés de lait. *Thèse Doct. pharm. Paris*, 1930.

300. SCHEFFER (M. A) — De suikervergisting door bacterien der coligroep. *Thèse. Doct. Univ. Techn. Delft.*, 1928 ; cité d'après *Bull. Inst. Past.*, 1929, **27**, 674.

301. SCHIEBLICH (M) — Die Metschnikoffsche Theorie und der Einfluss der Kost auf Darmflora, Wachtthum, Fortpflanzung, Gebaren und Blutbild der weissen Ratte. *Centralbl. f. bakt.*, 1930, **112**, 118-230 et 497-507.

302. SCHLIRF (K) — Bakteriologische Untersuchungen über die Zahnkaries. Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Mundbakterien. *Centralbl. f. bakt.*, 1926, **99**, 129.

303. SCHMIDT (A) — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **10**, 230.

304. SCHMITZ (C) — Zur kenntnis der Darmfaulniss. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1893, **17**, 401-403.

305. SCHZWEIBER (G) — Les laits caillés. *La Puériculture*, fév. 1922 ; cité d'après *Le Lait*, 1923, **3**, 142.

306. SCHRWEIBER (G) — Le Képhir. *La Puériculture*, avril 1922 ; cité d'après *Le Lait*, 1922, **2**, 479.

307. SEELMANN (M) — Sur la durée de vie des bacilles du typhus et du paratyphus dans les produits laitiers. *Milchwirtschaftliche Forschungen.*, 1926, **3**, 414-431 ; cité d'après *Le Lait* 1928, **8**, 155.

308. SEMICHON (L) — La sélection physiologique des ferments par l'alcool. *Ann. Inst. Past.*, 1929, **43**, 1210-1218.

309. SITTLER (P) — Beitrage zur Bakteriologie des Sauglingsdarmes. *Centralbl. f. bakt.*, (1), *Origin.*, 1908, **47**, 14-30 et 145-169.

310-311. SLOBODSKA-ZAYKOWSKA (N) — Zur Frage nach der Konservierenden Wirkung von Milchhefe auf Milchsäure bakterien. *Biochem. Zeitschr.*, 1926, **166**, 77-92.

312. SLOBOSIANO (H) et MUNTEANO (E) — La variation du pH dans les selles à la suite du traitement par les substances absorbantes dans les diarrhées des nouveaux-nés au sein. *Soc. Roum. Biol.*, 1926 ; cité d'après *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **95**, 757.

313. SOBOLEWA (W) et ZALESKI (J) — Le dosage de l'aldéhyde acétique au moyen du pyrrol et l'emploi de cette méthode pour le dosage de l'acide lactique. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1910, **119**, 441.

314. SOUCKE (K) — Recherches sur les cultures lactiques. *Svenska Mejeritidningen*, 1926, 138-140 ; cité d'après *Le Lait* 1928, **8**, 615.

- 315-316. STATHOPOULO (Th) — Le Yogourt comme aliment diététique et médicament. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1926, **3**, 415.
317. STEPHEN (J.A) et WALKER (E.R.C) — Lactic acid milk as a routine infant food. *The Lancet*, 1927, **213**, 63-65.
318. STOLNIKOW — *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 1883. **8**.
319. SUZUKI (S) et HART (E) — The quantitative estimation of lactic acid in cheese *Journ. of. Amer. Chem. Soc.* 1909. **31**, 1334.
320. SVEHLA — Sur le Képhir. *Hornik lekarsky*, 1923, **24** ; cité d'après *Le Lait*, 1924, **4**, 796.
321. TANNER (F. W) et HARDING (G. H) — Des bactéries thermophiles du lait. *Centralbl. f. Bakt.* (2), 1926, **67**, 330.
322. THÉPENIER (A) — Le mode d'action des ferments lactiques dans le traitement des colites. *Gaz. des Hôp.* 1931, 1086-1089.
323. TISSIER (H)* — Recherches sur la flore intestinale, normale et pathologique du nourrisson, *Thèse, Paris*, 1900.
324. TISSIER (H) — Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson. *Ann. Inst. Past.* 1905, **19**, 109.
325. TISSIER — Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60**, 359
326. TISSIER (H) — Recherche sur la flore intestinale des enfants âgés d'un 5 ans. *Ann. Inst. Past.* 1908, **22**, 189.
327. TISSIER (H) — Action comparée des microbes de la putréfaction sur les diverses albumines. *Ibid.*, 1912, **26**, 522.
328. TISSIER (H) — Contribution à l'étude des infections intestinales. Le *Bacillus Bookeri*. *Ibid.* 1920. **34**, 684.
329. TISSIER (H) — La Putréfaction ; *Bull. Inst. Past.* 1923 **21**, 361-376 ; 409-418 ; 577-592 et 625-634.
330. TISSIER (H) et DREYFUS (S) — Sur les streptocoques de la flore intestinale des nourrissons au sein. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **92**, 476.
331. TISSIER (H) et DREYFUS Flore intestinale de l'enfant élevé au biberon. *Ibid.*, 1925, **93**, 308.
332. TISSIER (H) et GASCHING (P) — Recherches sur la fermentation du lait. *Ann. Inst. Past.*, 1903, **17**, 540.
333. TISSIER (H) et MARTELLY — Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. *Ann. Inst. Past.*, 1902, **16**, 865.
334. TORREY (J. C) — The Fecal Flora of Typhoid Fever and Its Reaction to various Diets, *Journ. of. Inf. Dis.* 1915, **16**, 72-108.
335. TORREY (J.C) - The regulation of the intestinal flora of dogs through diet *Journ. of. Med. Research.*, 1919, **39**, 425.

336. TORREY (J.C) et KAHN (M.C) --- The inhibition of putrefactive anaerobes by *Bacterium acidophilus*. *Journ of. Inf. Dis* , 1923, **33**, 482.
337. TWEED (R.L) — Le Lait dans le traitement des affections de l'intestin *Michigan Agricult College, Exp. Stat.*, Mai 1921 ; cité d'après *Le Lait* 1923, **3**, 329.
338. TYCHOWSKI (A) et KOBEL (M) — Ueber eine schnell verlaufende Umwandlung von Hexose-di-phosphat in Lactat unter dem Einfluss des typischen Milchsäurebildners « *Bac. Delbrückii*. » *Biochem Zeitschr.*, 1929, **209**, 134.
339. VALEUR (A) — Sur la formation de l'acide lactique à partir des sucres. *Bull. Sc. Pharm.*, 1921, **28**, 252.
340. VANDEVELDE (A. J-J) Les indicateurs et l'acidité totale et réelle du lait. *Le Lait*, 1927, **7**, 140.
341. VAN O'TUNMANN — Etude micrographique du Képhir. *Journal Suisse de Chim. et de Pharm.*, 1910, **48**, 537.
342. VAN SLYKE et PALMER — *Journ. of Biol. Chem* ; **41**, 467.
343. VAN STEENBERGE (P) — Les propriétés des microbes lactiques ; leur classification. *Ann. Inst. Past* , 1920, **34**, 803.
344. VAS(Ch) — Formation d'acide en symbiose du « *Bact. Bulgaricum* » et un « *Streptococcus lactis* » dans le Yoghourt. *Le Lait*, 1924, **4**, 625.
346. VASSILIADIS (P.C) — Recherche du *Bacillus acidophilus* de Moro C. R. *Soc. Biol.*, 1929, **100**, 451.
347. VINCENT (H) — Action antitoxique de la bile sur les toxines microbiennes de l'intestin. *C. R. Soc. Biol.*, 1909, **67**, 679.
348. VIOLE (H) — Les microbes du lait. Une espèce banale de ferment active très fréquente dans le lait : le streptocoque lactique glaireux. *Ann. Inst. Past.*, 1921, **35**, 218.
349. VIRTANEN (A. J) et KARSTRÖM (H) — De la fermentation lactique III *Hoppe. Seyler. Zeitschr.*, 1926, **155**, 251-258 ; cité d'après *Le Lait*, 1930, **10.**, 79.
350. VIRTANEN (A.J), KARSTRÖM (H) et BAECK (R) — De la fermentation lactique II, *Hoppe. Seyler. Zeitschr.*, : 1926, **151**, 232-241, cité d'après *Le Lait* , 1930, **10**, 78.
351. VIRTANEN (A. J.), WICHMANN (E) et LINDSTRÖM (B) — La fermentation lactique IV. *Hoppe Seyler Zeitschr.*, 1921, **166**, 21-38 ; cité d'après *Le Lait*, 1929, **9**, 986.
352. VOETKIEWICZ (A.F) — Sur la physiologie des bactéries lactiques. *Bull. de la stat. agro. bact. de Moscou.*, 1926, **24**, 113-129 ; cité d'après *Le Lait*, 1928, **8**, 613.
353. VON FURTH (O) et CHARNASS (D) — Ueber die quantitative Bestimmung der Milchsäure durch Ermittlung der daraus abspaltbaren Aldehydmenge. *Biochem. Zeitschr.*, 1910, **26**, 199.

354. WEBSTER (L T) — The intestinal flora in mouse typhoid infection. *Journ. of exp. Méd.*, 1923, **37**, 21-23 et 231-269.

355. WEDERMANN — Der Einfluss der Milchsäuregärung auf in Milch enthaltene pathogene Keime. *Tag. d. Deutsch-Verein. f. Mikrob.*, 1925 ; cité d'après *Centralbl. f. Bakt.*, (1), 1926, **97**, 50.

356. WEIGMANN, GRUBER et HUSS — Ueber armenisches Mazun. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1907, **19**, 70-87.

357. WEIL (A.J) — Le contrôle bactériologique du Yoghourt. *Centralbl. f. Bakt.*, (2), 1927, **69**, 321.

358. WEISS (H) — Zur Kenntniss der Darmflora. *Centralbl. f. Bakt.*, 1904, (1), **36**, 13-28.

359. WIDMANN (E) — Quantative Umwandlung von Methylglyoxal in reire de (-) Milchsäure durch « *Bact fluorescens* ». *Biochem. Zeitschr.*, 1929, **216**, 475.

359 (bis). WINTERNITZ (H) — Ueber das Verhalten der Milch und ihrer wichtigsten Bestandtheile bei der Faulniss, *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1892, **16**, 460-487.

360. WLADYCZKO (S) — De l'influence des poisons intestinaux (paracrésol et indol) sur le système nerveux central des animaux. *Ann. Inst. Past.*, 1913, **27**, 336.

361. WOLLMAN (E) — Recherches sur les microbes amylolytiques de l'intestin. *Ann. Inst. Past.*, 1912, **26**, 610-624

362. WOLLMAN (E) — *Proceed 3rd Race Betterment Confer.*, Janv. 1928.

363. WURTZ et LINDET. — Recherche sur l'action pathogène du Bacille lactique. *Arch. Méd. exp.*, 1891, **3**, 485.

1931

IMPRIMERIE DES ORPHELINS, 28, QUAI DE L'YSER — CALAIS
